

Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE
CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

151. BAND, 5. HEFT

MIT 10 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 15. JUNI 1956)



SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1956

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*. Bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurténacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurténacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die „Zeitschrift für analytische Chemie“ erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen“ selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie“ enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

**Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.**

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostensatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag

Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24

Fernsprecher 27901

Berlin W 35, Reichpietschurfer 20

Fernsprecher 249251

J. F. Bergmann

München 27, Trogerstraße 56

Fernsprecher 40535

Band 151

Inhaltsverzeichnis

Heft 5

Originalabhandlungen

Seite

Neu, R., Über die Verwendung stabiler Diazoniumsalze als Reagentien in der Papierchromatographie zum Nachweis von Flavonen	321
Neu, R., Aromatische Borsäuren als bathochrome Reagentien für Flavone. Analytische Untersuchungen auf dem Flavon-Gebiet. VIII. Mitteilung.	328
Hartmann, S., Die Bestimmung geringer Phosphatmengen neben großen Mengen Vanadat	332
Sommer, G., Studien zur anorganischen Papierchromatographie. 2. Mitteilung. Der Nachweis der Alkali- und Erdalkalimetalle. Mit 2 Textabbildungen	336
Rao, G. Gopala, and N. Venkateswara Rao, Volumetric Estimation of Indigo and Indigo Sulphonic Acid with Potassium Dichromate. . . .	347
Rao, G. Gopala, N. Venkateswara Rao and I. Subramanyam, Cerimetric Estimation of Indigo Carmine.	353

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium
der Fa. Dr. Willmar Schwabe G.m.b.H., Karlsruhe-Durlach

Über die Verwendung stabiler Diazoniumsalze als Reagentien in der Papierchromatographie zum Nachweis von Flavonen

Von
RICHARD NEU

(Eingegangen am 27. März 1956)

Der Nachweis der einzelnen Bestandteile eines papierchromatographisch aufgetrennten Gemisches ist eine weitere Voraussetzung für die wertvolle Arbeitsmethodik. Das Erkennen von Mikrogrammen einer Substanz hat bereits F. FEIGL⁷ durch den von ihm entwickelten „spot test“ in überzeugender Weise gezeigt und dadurch für die Papierchromatographie einen wesentlichen Beitrag geliefert. Die Sichtbarmachung der einzelnen Stoffe ist deshalb nichts anderes als ein vervielfachter „spot-test“. Die weitere Ausgestaltung der Tüpfelanalyse mit eindeutigen Verbindungen und die Erfassung der Nachweisgrenze wird sich deshalb vorteilhaft für die Entwicklung der Papierchromatographie auswirken.

Mit geeigneten Reagentien wird das Erkennen von Substanzen mit gleichen oder ähnlichen Eigenschaften vor allem durch die Sichtbarmachung ihrer Steighöhe im Chromatogramm ermöglicht, aber weniger durch gleichzeitig auch charakteristische, voneinander verschiedene Farbtöne. Im allgemeinen sind nur wenige spezifische Reagentien bekanntgeworden, die nicht nur für den Nachweis, sondern auch zu einer Aussage über die Konstitution der Substanz brauchbar sind. Beispielsweise lassen sich die Oxy-Derivate der Phenyl-benzo- γ -pyrone mit den meisten Metallsalzen kenntlich machen, aber die bathochromen Flecken sind oft zu ähnlich, um zwischen den Farbtönen Gelb, Orange und Braun die Nuance immer eindeutig feststellen zu können.

Durch die Entwicklung neuartiger Reagentien, insbesondere neuer organischer Verbindungen, ist ein weiterer Fortschritt zum Nachweis und zur Unterscheidung von Verbindungen derselben Gruppe gegeben. So konnte kürzlich mit Hilfe der von R. NEU¹⁴ synthetisierten Tetraaryl-diboroxysäure ihre Verwendung zum Nachweis von Flavonen¹⁵ und die Steigerung des Nachweises durch Umsetzung mit quartären Ammoniumverbindungen¹⁶ auch papierchromatographisch für 5- und 3-Oxyflavone und ihre Glucoside gezeigt werden. Durch unterschiedliche Farbtöne ergeben sich auch Anhaltspunkte für die Konstitution der sichtbar gemachten Flavone¹⁷. Das angeführte Beispiel zeigt, daß durch neue

synthetische organische Verbindungen die Papierchromatographie nicht nur spezifischer ausgestaltet, sondern durch ein zweites Merkmal das Ergebnis gesichert werden kann.

Zum Nachweis zahlreicher organischer Substanzen wurden bereits Diazo-Verbindungen als Reagentien empfohlen, die ungefärbte, im Tageslicht nicht sichtbare Komponenten im Papierchromatogramm durch Bildung eines Farbstoffes anzeigen.

Ohne Vollständigkeit zu beanspruchen, wird als häufig verwendetes Reagens diazotierte Sulfanilsäure verwendet, um organische Substanzen im Papierchromatogramm sichtbar zu machen, so z. B. aromatische Carbonsäuren, wenn diese gleichzeitig phenolische Hydroxylgruppen enthalten, Purine, wie Adenin, Guanin, Xanthin, Hypoxanthin und Theophyllin, die starke Farbtöne geben. Guanin und Xanthin bilden einen stabilen roten Farbstoff, während die Farbe des Pyrimidins Thymin bald verblaßt²¹. Tryptophan bildet einen rotorangen und Vitamin B₁ einen orangen Farbstoff¹. Die zum Vitamin-B-Komplex gehörenden Verbindungen können nach elektrophoretischer Auftrennung mit diazotiertem p-Aminoacetophenon nachgewiesen werden. Phenolische Anthoxanthine setzen sich mit diazotierter Sulfanilsäure⁵ oder bis-diazotiertem Benzidin¹² zu gelben oder roten Farbstoffen um. Das bis-diazotierte Benzidin wurde erstmalig von G. LINDSTEDT¹³ dazu verwendet, die hydroxylierten Verbindungen aus dem Kernholz der Fichte durch die Farbe der Flecken, außer dem R_F-Wert und der Zeitdauer der Farbstoffbildung, zu charakterisieren. Auch Phenole bilden mit diazotierter Sulfanilsäure verschieden gefärbte Flecken. Das Gemisch der zu trennenden Substanzen kann ferner vor Anwendung der papierchromatographischen Technik mit diazotierter Sulfanilsäure gekuppelt und die gebildeten Farbstoffe können dann zweidimensional getrennt werden⁴. Die Anwendung der Rundfiltermethodik dürfte auch für die Papierchromatographie der gebildeten Farbstoffe brauchbar sein.

An Stelle von Diazoverbindungen wird auch salpetrige Säure zum Nachweis verwendet, z. B. für Chlorogensäure^{11, 20}. Die entstehende Färbung ist aber nicht sehr kräftig.

Eine große Anzahl weiterer, farbloser organischer Substanzen mit für Diazoverbindungen reaktionsfähigen Stellen lassen sich durch Farbstoffbildung kennzeichnen. So reagiert Cumarin mit Diazoverbindungen nach W. BORSCHÉ² unter Bildung von Farbstoffen, die nach P. CASPARIS u. E. MANELLA³ analytisches Interesse beanspruchen.

Der Nachweis mit der Diazoverbindung erfolgt allgemein derart, daß z. B. die Sulfanilsäure oder eine andere Substanz mit einer am Ring befindlichen Aminogruppe diazotiert und die erhaltene Lösung als Reagens benutzt wird. Die Haltbarkeit der Diazolösung ist aber bekanntlich auch bei Aufbewahrung im Eisschrank begrenzt.

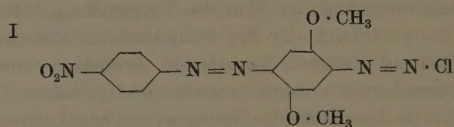
Im Gegensatz zu den stets frisch zu bereitenden Diazoverbindungen sind stabile, in fester Form haltbare bekannt, die vor der Anwendung als Reagens lediglich in Lösung gebracht werden müssen. Obgleich solche festen Diazoverbindungen nicht nur bekannt sondern auch auf dem Markt sind, so wurden sie bisher wenig verwendet, und auch in neuesten Vorschriften finden sich nur Angaben über die Verwendung selbst bereiteter Diazolösungen, hauptsächlich der der Sulfanilsäure. Bei einer systematischen Untersuchung anderer diazotierter Aromaten zum Nachweis hätten sich wahrscheinlich auch verschieden gefärbte Umsetzungsprodukte gezeigt, die der papierchromatographischen Auftrennung außer dem R_f -Wert eine weitere chemisch-konstitutionell auswertbare Bereicherung durch Unterscheidung verwandter Verbindungen erbracht hätten.

Bis jetzt sind noch nicht sehr viele Reagentien bekanntgeworden, die zwischen ähnlichen Substanzen zu differenzieren ermöglichen. F. CRAMER u. G. H. ELSCHNIG⁶ haben vor kurzem bei der Darstellung der Jod-Addukte von Flavonen festgestellt, daß die zwischen Graubraun bis Tief-schwarz-Violett liegenden Farben von der Stellung des Substituenten als auch von diesem selbst abhängig sind, und daß sich zwar über einen rationellen Zusammenhang keine Aussagen machen lassen, aber eine gewisse Regelmäßigkeit im Verhalten der Flavone festgestellt werden kann.

In der Regel werden mindestens zwei Reagentien erforderlich sein, wenn sich Aussagen über die Konstitution der nachgewiesenen Verbindung machen lassen sollen. Bei manchen Verbindungsklassen, wie z. B. den Alkaloiden und Aminosäuren, ergeben sich durch die große Anzahl der Vertreter nur wenig Wege, aus dem Papierchromatogramm allein definierte Angaben, die sich nur auf den R_f -Wert ohne Vergleichssubstanz oder auf die Fluoreszenz beziehen, zu machen. Außerdem ist der Nachweis der Zugehörigkeit zu einer bestimmten Gruppe erschwert, so daß neue spezifische Reagentien zu einer zwingenden Notwendigkeit werden, womit die Papierchromatographie, deren Bedeutung bis jetzt hauptsächlich in der Trennmöglichkeit von Gemischen in Mikrogramm-Mengen besteht, auch die einzelnen Substanzen, wenn sie bekannt sind, durch den R_f -Wert kennzeichnen und durch eine spezifische Reaktion chemisch näher definieren kann. Die in der Literatur angegebenen R_f -Werte sind häufig nicht reproduzierbar, und R. HÄNSEL¹⁰ hat z. B. auf Abweichungen bei Pflanzenpigmenten hingewiesen. Die Beschaffung von Vergleichssubstanzen, vor allem aus Naturprodukten, in papierchromatographischer Reinheit ist eine oft mühevollen Arbeit. Häufig ist die präparative Trennung durch Papierchromatographie der einzige Weg, z. B. zwei Substanzen mit geringen konstitutionellen Unterschieden zu trennen.

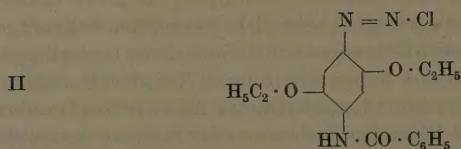
Die vorstehend geschilderte Ausgestaltung der Papierchromatographie durch ein spezifisches Reagens wurde von R. NEU¹⁷ für die Flavone

gezeigt. Wie jetzt gefunden wurde, lassen sich die Flavone durch verschiedene Diazoverbindungen charakterisieren, wozu vor allem die festen Diazosalze gut geeignet sind. Die verwendeten Verbindungen sind unter den Handelsnamen Echtblausalz B, Echtblausalz BB, Echtrotsalz B, Echtschwarzsatz K bekannt und haben folgende Konstitution:



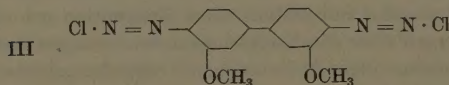
*Echtschwarzsatz K**

(Diazotiertes 4-Amino-3,6-dimethoxy-4'-nitro-azobenzol)



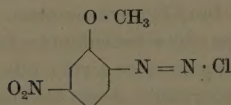
*Echtblausatz BB**

(Diazotiertes 1-Amido-4-benzoylamido-2,5-diäthoxybenzol)



*Echtblausatz B**

(Tetraazotiertes Di-o-anisidin)



Echtrotsatz B

(Diazotiertes 5-Nitro-2-aminoanisol)

Die Umsetzung der in Wasser gelösten Diazosalze mit Flavonen auf dem Papierchromatogramm erfolgt durch Tauchen oder Sprühen und macht sich durch charakteristische Farben bemerkbar. Die von der Anzahl und Stellung der Hydroxylgruppen und der Aglucon- oder Glucosid-Natur abhängige Bildung des Farbstoffes kann zu Hinweisen auf die Konstitution dienen.

In nachstehenden Versuchsergebnissen sind die R_f -Werte von Flavonen nach eigenen und fremden Arbeiten enthalten, um zu zeigen, daß damit

* Zu beziehen durch die Fa. Serum-Vertrieb Marburg G.m.b.H., Marburg-Lahn.

nicht allein die zu den Flecken gehörende Substanz mit Sicherheit erkannt werden kann.

Eine ähnliche Gegenüberstellung der R_f -Werte von Flavonen durch R. HÄNSEL¹⁰ zeigt zum Teil wesentliche Unterschiede der von verschiedenen Autoren mitgeteilten Zahlen.

Aus den im Versuchsteil wiedergegebenen Verhalten der verschiedenen Flavone nach dem Umsetzen mit den Diazoverbindungen I, II und III lassen sich gewisse Regeln ableiten, die Aussagen über die Konstitution unbekannter Flavonderivate zulassen. Alle Flavone, die in 7-Stellung einen Zuckerrest enthalten, reagieren mit den Diazoverbindungen nicht; wahrscheinlich handelt es sich um eine sterische Hinderung des Eintritts des Diazosubstituenten in den Benzolkern. Dagegen geben die Aglucone kräftige Farben. Ein solches Verhalten ermöglicht den Verlauf der Hydrolyse eines Glucosids festzustellen. Flavanone, die sich mit den üblichen Reagentien nur schwer sichtbar machen lassen oder dem Aglucon und Glucosid ähnliche Farbtöne geben, können durch die Bildung eines Farbstoffes erkannt und damit durch den R_f -Wert näher charakterisiert werden.

T. A. GEISSMAN⁹ gibt für Hesperetin und Hesperidin außer den R_f -Werten als Reagentien Ammoniak, Aluminiumchlorid und Eisen(III)-chlorid an. Hesperetin gibt in der Reihenfolge der Reagentien die Farben Gelbgrün, Gelblichgrün und Braun im UV-Licht, Hesperidin Gelb und Gelblich im UV-Licht. Für d-Catechin ist die mit Ammoniak im UV-Licht sichtbare Schwärzung des Fleckens angegeben. Demgegenüber werden mit den verwendeten Diazoverbindungen beim Hesperetin kräftig gefärbte Flecken erhalten, dagegen mit dem Glucosid nicht. d-Catechin gibt einen starken Farbfleck.

Die im Versuchsteil wiedergegebene Tabelle enthält weitere interessante Unterschiede des Reaktionsvermögens der drei untersuchten Diazoverbindungen.

Verwertbare Unterlagen für Voraussagen über das Verhalten von anderen als der hier untersuchten Flavone und ihren Glucosiden gegenüber Diazoverbindungen werden mit Polyphenolen und ihren verschiedenen Methyläthern erhalten, so daß es nicht erforderlich und wohl auch praktisch nicht möglich ist, die ganze Skala der Oxy-benzo- γ -pyrone zur Verfügung zu haben. An Stelle der an verschiedenen Substitutionsorten befindlichen Zuckerreste in den Flavonen können — soweit die bisherigen Ergebnisse erkennen lassen — auch die Methyläther als Modellsubstanzen geprüft werden. Der Vorteil des Einsatzes von Methyläthern gegenüber dem von Glucosiden besteht in einer meistens einfacheren synthetischen Herstellung im Vergleich zu der langwierigen und umständlichen Isolierung und Reinigung aus Pflanzen und deren oft schwierigen Beschaffung.

Die dem papierchromatographischen Nachweis als Grundlage dienende, von FEIGL entwickelte, wertvolle Bereicherung der analytischen Methodik, der „spot test“, ist auch auf die Oxyderivate der Benzo- γ -pyrone und die verwendeten Diazoverbindungen anwendbar. Das Verhalten der verschiedenen Flavone als Aglucone und Glucoside durch Bildung verschiedenfarbiger Pigmente sowie die noch sicher erkennbare untere Nachweisgrenze durch die Verwendung der stabilen Diazosalze als Reagens im „spot-test“ soll an geeigneter Stelle beschrieben werden¹⁹.

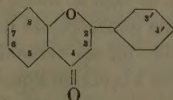
Durch eine andere Durchführung an Stelle des hier beschriebenen papierchromatographischen Nachweises ist es möglich, die verwendeten Diazoverbindungen auch zur generellen Unterscheidung zwischen Flavonen und ihren Glucosiden heranzuziehen. Auf die Modifizierung der Bestimmung und die erhaltenen Ergebnisse kann im Rahmen vorliegender Arbeit nur hingewiesen werden; die Einzelheiten zu dem für phytochemische Arbeiten wichtigen Thema des einfachen Erkennens einer Flavon- bzw. Flavon-Glucosid-Struktur mit geringen Mengen müssen jedoch einer besonderen Arbeit vorbehalten bleiben.

Bei Verwendung der stabilen Diazoverbindungen als Reagens für die Untersuchung der unbekannten Flavone z. B. aus *Avena sativa* und *Passiflora incarnata* ergaben sich Hinweise auf ihre Konstitution bzw. auf den für die Aufarbeitung der Pflanzenextrakte zweckmäßigen Weg. Darüber soll später berichtet werden.

Die festen Diazoverbindungen als Reagens für den Nachweis von Alkaloiden zu verwenden, wurde bereits für die 3-Methyl-4-carbolin-Basen von R. NEU¹⁸ beschrieben. Die weitere Verwendung der genannten Diazokörper zur Kenntlichmachung und Bestimmung anderer Substanzen soll gelegentlich bekanntgemacht werden.

Versuchsteil

Von jedem Flavon wurden 10 μ g vor dem Chromatographieren aufgetragen. Als Lösungsmittelgemisch wurde Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) und als Papier Schleicher & Schüll 2043a verwendet. Die Farbe der einzelnen Flavone wurde nach dem Besprühen mit einer 0,1–0,5%igen wäßrigen Lösung der vorgenannten Diazoverbindungen I, II und III beurteilt (vgl. Tab. I).



Zusammenfassung

An Stelle der stets frisch zu bereitenden, wenig haltbaren Lösungen von diazotierbaren Verbindungen als Reagentien zum papierchromatographischen Nachweis von Oxy-benzo- γ -pyranderivaten lassen sich in fester Form stabile, in Wasser lösliche Diazoverbindungen verwenden,

Tabelle 1

Oxy-Flavon-	Glucosid	Trivialname	R _F -Werte	Nachweis mit		
				I	II	III
3,5,7,2',4'-	—	Morin	0,88 (0,87) *	BlGr ⁺	BIV ⁺	RV ⁺
3,5,7,3',4'-	—	Quercetin	0,72 (0,74) *	Br ⁺	BIV ⁺	RV ⁺
3,5,7(OCH ₃),3',4'-	—	Rhamnetin	0,78 (0,77) **	W	(V)	(RV)
3,5,7,3'(OCH ₃),4'-	—	Isorhamnetin	0,80 (0,90)	Bl	BIV ⁺	RV ⁺
3,5,7,3',4'-	3-glucosid	Quercitrin	0,74 (0,80) *	Br ⁺	RV ⁺	W
3,5,7,3',4'-	3-galactosid	Hyperosid	0,53 (0,51) ***	Br	BIV ⁺	W
3,5,7,3',4'-	3-rhamno- glucosid	Rutin	0,46 (0,58) *	Br ⁺	RV	W
3,5,7,4'-	—	Kämpferol	0,85 (0,90) *	Bl ⁺	BIV ⁺	RV ⁺
3,5,7,4'-	3-diglucosid	Kämpferin	0,67 (0,62) °	Bl ⁺	BIV ⁺	RV
3,7,3',4'-	—	Fisetin	0,64 (0,72) *	Br	BIV	W
3,7,4',3'(OCH ₃)-	—	3'-Methoxy- fisetin	0,77 —	Br	(BIV)	W
3,7,3',4',5'-	—	Robinetin	0,35 (0,56) **	Br	BIV	W
5,7,4'-	7-apiose- glucosid	Apiin	0,40 (0,66) *	—	—	—
5,7,4'-	—	Apigenin	0,90 (0,92) *	Bl ⁺	BIV ⁺	RV ⁺
5,7,3',4'-	—	Luteolin	0,80 (0,88) *	Br ⁺	RV ⁺	W
5,7,3',4'(OCH ₃)-	7-rhamno- glucosid	Diosmin	0,46 (0,55) *	—	—	—
5,7,3',4'(OCH ₃)-	—	Diosmetin	0,86 (0,89) *	Bl	RV ⁺	RV
5,7,4'(OCH ₃)-	7-dirhamnosid	Acaciin	0,40 —	—	—	—
5,7,4'(OCH ₃)-	—	Acacetin	0,90 (0,92) **	Bl ⁺	BIV ⁺	RV ⁺
5,6,7,4'-	glucuronsäure	Scutellarin	0,30 —	Br	RV	W
5,6,7,4'-	—	Scutellarein	0,72 —	V	RV ⁺	R ⁺
3,5,7,3',4'-	—	d-Catechin	0,68 (0,74) **	Bl ⁺	RV ⁺	RV ⁺
5,7,3',4'(OCH ₃)-	Flavanon- 7-rhamnosid	Hesperidin	0,58 (0,40) **	—	—	—
5,7,3',4'(OCH ₃)-	Flavanon-	Hesperetin	0,87 (0,87) **	Bl ⁺	RV ⁺	RV ⁺
3,5,7,3',4'-	2,3-	Dihydro- quercetin	0,82 —	Br	BIV ⁺	RV

* R_F-Werte von Flavonen nach E. C. BATE-SMITH, Partition chromatography, Biochemical Society Symposium Nr. 3, S. 68, Cambridge 1951.

** Nach T. B. GAGE, C. D. DOUGLAS und S. H. WENDER⁸.

*** Nach R. HÄNSEL¹⁰.

o Nach T. A. GEISSMAN⁹.

Abkürzungen: Bl = Blau, Br = Braun, Gr = Grau, R = Rot, RV = Rotviolett, BIV = Blauviolett, V = Violett, W = Weiß, () = schwache Farbe, + = kräftige Farbe.

die unter Farbstoffbildung reagieren. Gegenüber anderen gebräuchlichen Reagentien ergeben sich durch verschiedenen Ausfall der Farbreaktion zwischen Agluconen und ihren 7-Glucosiden solche Unterschiede, daß sich Aussagen über die Konstitution machen lassen. Auf die Verwendung fester Diazoverbindungen zum Nachweis und zur Kenntlichmachung von Alkaloiden und anderen Pflanzeninhaltsstoffen wurde hingewiesen.

Untersucht wurde das Verhalten von diazotiertem 4-Amino-3,6-dimethoxy-4'-nitro-azobenzol, 1-Amido-4-benzoylamido-2,5-diäthoxybenzol und Di-ortho-anisidin.

Verf. dankt Herrn Dr. HARMS, Farbenfabriken Bayer AG., Leverkusen, für die Mitteilung der Konstitutionsformeln.

Verf. dankt Fräulein ELISABETH BUHL für die sorgfältige Durchführung der Versuche.

Literatur

- ¹ BERRY, H. K., H. E. SUTTON, L. CAIN u. J. S. BERRY: Univ. Texas Bull. Nr. 5109, 22 (1951). — ² BORSCHKE, W.: Ber. dtsch. chem. Ges. **37**, 346 (1904). — ³ CASPARIS, P., u. E. MANELLA: Der Nachweis natürlicher Cumarine in Drogen, Diss. Bern 1943. — ⁴ CHANG, W. H., R. L. HOSSFELD and W. M. SANDSTROM: J. Amer. chem. Soc. **74**, 5766 (1952); vgl. diese Z. **142**, 50 (1954). — ⁵ Vgl. F. CRAMER: Papierchromatographie, 3. Aufl. Weinheim 1954, S. 89. — ⁶ CRAMER, F., u. G. H. ELSCHNIG: Chem. Ber. **89**, 1 (1956). — ⁷ FEIGL, F.: Qualitative analysis by spot tests, Elsevier Publishing Co., New York 1947. — ⁸ GAGE, TH. B., C. D. DOUGLASS and S. H. WENDER: Analyt. Chemistry **23**, 1582 (1951); vgl. diese Z. **136**, 435 (1952). — ⁹ GEISSMAN, T. A.: The Distribution of Flavonoid Compounds in Nature, in K. PAECH u. M. V. TRACEY: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. III, S. 450. Springer-Verlag 1955. — ¹⁰ HÄNSEL, R., in H. F. LINSKENS: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin: Springer 1955. — ¹¹ HOFFNER, W.: Chemiker-Ztg. **56**, 991 (1932); vgl. diese Z. **94**, 300 (1933). — ¹² KOCH, J. E., u. W. KRIEG: Chemiker-Ztg. **62**, 140 (1938); vgl. diese Z. **119**, 237 (1940). — ¹³ LINDSTEDT, G.: Acta chem. scand. (Kopenhagen) **4**, 448 (1950); vgl. auch diese Z. **138**, 329 (1953). — ¹⁴ NEU, R.: Chem. Ber. **87**, 802 (1954); **88**, 1761 (1955). — ¹⁵ NEU, R.: diese Z. **142**, 335 (1954). — ¹⁶ NEU, R.: diese Z. **143**, 30 (1954). — ¹⁷ NEU, R.: Naturwissenschaften **43**, 82 (1956). — ¹⁸ NEU, R.: Arzneimittelforsch. **6**, 94 (1956). — ¹⁹ Vorgesehen für Mikrochim. Acta. — ²⁰ SVENDSEN, A.: Zur Chemie norwegischer Umbelliferen. Oslo 1954, S. 127. — ²¹ WOODHOUSE, D. L.: Biochemic. J. **44**, 185 (1949); vgl. diese Z. **131**, 74 (1950).

Dr. R. NEU, in Fa. Dr. Willmar Schwabe GmbH., Karlsruhe-Durlach, Postfach 30

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium
der Fa. Dr. Willmar Schwabe GmbH, Karlsruhe-Durlach

Aromatische Borsäuren* als bathochrome Reagentien für Flavone

Analytische Untersuchungen auf dem Flavon-Gebiet. VIII. Mitteilung**

Von

RICHARD NEU

(Eingegangen am 27. März 1956)

Zum Nachweis von Flavonen hat C. W. WILSON⁴ die Borsäure vorgeschlagen und K. TAUBÖCK³ hat durch den Zusatz von Citronensäure die Reaktion verbessert. Auf die Störung der Reaktion durch Wasser

* VIII. Mitt. Über Tetraphenyl-diboroxyd.

** VII. Mitt. Vgl. Naturwissenschaften **43**, 82 (1956).

wiesen WILSON u. Mitarb.⁵ hin. Die Tüpfelreaktion nur mit Borsäure allein auf Filtrierpapier beschrieb W. BRUNE¹ und machte auf die Beständigkeit der auftretenden Farbflecken aufmerksam.

Die brauchbare, aber umständlich durchzuführende WILSON-TAUBÖCK-Reaktion konnte von R. NEU² durch die Verwendung und Darstellung organischer Borverbindungen, der Tetraaryl-diboroxys, vereinfacht und verbessert werden. Die durch das Auftreten einer starken Bathochromie gekennzeichnete Umsetzung zwischen Flavonen und Tetraaryl-diboroxys war bei orientierenden Vergleichen stärker als mit Phenylborsäure und Borsäure. Von R. NEU war auf das unterschiedliche Verhalten der drei Borverbindungen ohne weitere Einzelheiten früher kurz hingewiesen, und die Bathochromie der Phenylborsäure als der der Borsäure ähnlicher beschrieben worden. Um den Ausfall der bathochromen Reaktion zwischen den Tetraaryl-diboroxys und Monoarylborsäuren deutlicher zu kennzeichnen, war es vor allem notwendig, die allgemeine Gültigkeit an möglichst vielen Flavonen zu überprüfen, wobei die Schwierigkeiten in der Beschaffung dieser Substanzen lagen. Inzwischen wurden von uns mehr als 20 Flavone bzw. Flavonglucoside mit den beiden aromatischen Borverbindungen untersucht, und zwar wurden als Reagentien das Tetraphenyl-diboroxys* und die Phenylborsäure wegen der einfacheren Herstellung verwendet.

Soweit die bisher untersuchten Flavone (s. Versuchsteil) eine Aussage zulassen, konnte die seinerzeit gemachte Beobachtung in vollem Umfang bestätigt werden, daß das Tetraphenyl-diboroxys eine stark erhöhte Bathochromie bewirkt und deshalb der Phenylborsäure erheblich überlegen ist. Die Unterschiede zeigen sich besonders eindrucksvoll, wenn die Reaktion mit beiden organischen Borverbindungen nicht nur gleichzeitig, sondern auch mit gleichen Mengen an Substanz vorgenommen wird. Die Wiedergabe der Farbe und der Farbintensitäten kann sich nur auf die visuell gemachten Feststellungen beschränken. Im UV-Licht zeigt sich, daß die zwischen beiden Borverbindungen auftretenden Differenzen noch größer sind, was ebenfalls eindeutig die Überlegenheit des Tetraphenyl-diboroxys gegenüber der Phenylborsäure erkennen läßt. Bei dieser Gelegenheit muß hervorgehoben werden, daß unter den für den Nachweis von Flavonen vorgeschlagenen Reagentien sich keine Substanz befindet, die so viele Möglichkeiten analytisch verschiedenen Verhaltens aufweist, wie die vom Verf. vorgeschlagenen Tetraaryl-diboroxys. Die Tetraaryl-diboroxys geben ferner durch den Ausfall der verschiedenen Bathochromie auch Hinweise auf die Struktur der Flavone. Bei Versuchen zur Herstellung von Tetraaryllalkyl-diboroxys zeigte sich, daß mit 3-Oxyflavonen z. B. Quercetin die bathochrome Reaktion durch ein nach kurzer

* Tetraphenyl-diboroxys wird nach DBP-Anm. H 20798 IVc/12o von der Fa. Heyl & Co., Hildesheim, hergestellt.

Zeit entstehendes tiefes Rot verschoben wird, das den Monoarylkylborsäuren nicht zukommt.

Die vom Verf. synthetisierten aromatischen Borverbindungen als Reagentien können zu allgemeinen Vorstellungen über ein Aufbauprinzip organischer Verbindungen, die analytisch verwendbar sind, ausgestaltet werden⁶.

Das Verhalten der verschiedenen Flavone gegenüber dem Tetraphenyldiboroxyd, das sich beim Nachweis durch unterschiedliche Bathochromie erkennen läßt, muß konstitutionsbedingt sein. Es erscheint aber verfrüht, aus den bisher vorliegenden Ergebnissen jetzt schon eine Regel ableiten zu wollen, die durch Ausnahmen die analytische Eindeutigkeit erschweren und die allgemeine Gültigkeit einschränken würde.

Aus den Versuchen geht hervor, daß 3-Oxyflavone gegenüber 5-Oxyflavonen mit Tetraphenyldiboroxyd eine stärkere Bathochromie und die Farben von Gelb, Gelborange und Rotorange zeigen, je nach der Anzahl und der Stellung der vorhandenen Hydroxylgruppen. Diese Unterschiede zeigen sich bei der Phenylborsäure nicht in dem Maße, auch ist die Intensität des Farbtones erheblich schwächer und die Farbnuance herabgesetzt. Dem Auftreten bzw. dem Fehlen der im Tageslicht sichtbaren grünen Fluoreszenz bei isomeren 3-Oxyflavonen (Morin und Quercetin) ist noch besondere Beachtung zu schenken. Bei den bisher untersuchten 5-Oxyflavonen wurde keine Fluoreszenz im Tageslicht festgestellt. 5-Oxyflavone zeigen im wesentlichen nur gelbe bis schwachgelbe Farbtöne, die sich aber z. B. bei vier Hydroxylgruppen enthaltenden Flavonen zu einem kräftigen Gelb (Luteolin) oder Gelborange (Scutellaretin) steigern können, wobei der Unterschied zwischen beiden Borverbindungen nur in der Intensität auftritt.

Diese beiden isomeren 5-Oxyflavone, mit in 5, 6, 7, 4' — beim Scutellarin — und 5, 7, 3', 4' — beim Luteolin — befindlichen Hydroxylgruppen in benachbarter Stellung im Benzolring bzw. in meta-Stellung des Seitenphenyls der Flavon-Molekel haben Einfluß auf die bathochrome Reaktion. Auch die Fluoreszenz des Morins und 3'-Methoxyfisetins im Vergleich zum Quercetin zeigt, daß den Hydroxylgruppen im Seitenphenyl eine Beteiligung an der Bathochromie, im Gegensatz zu von anderer Seite geäußerten Ansichten, nicht abzusprechen ist. 5-Oxyflavon-Glucoside zeigen im Vergleich zu ihren Agluconen eine Abnahme der Farbtintensität. Weitere Versuche sollen die Beteiligung der Seitenphenylhydroxyle feststellen. Durch Messen der Fluoreszenz von Flavonen kann die quantitative Bestimmung auch auf einem anderen Weg als colorimetrisch erfolgen.

Das Verhalten anderer, noch nicht untersuchter Flavone im gegenwärtigen Stadium der Untersuchungen vorauszusagen, ist inopportun.

Abschließend kann zusammengefaßt werden, daß das von uns zum Nachweis von Flavonen empfohlene Tetraphenyl-diboroxyd sich wegen stärkerer bathochromer Reaktion der Phenylborsäure erheblich überlegen erweist und durch Hinweise auf das Vorliegen von 3-Oxyflavonen oder 5-Oxyflavonen auch zur Orientierung über eine unbekannte Flavonstruktur brauchbar ist. Die Tetraaryl-diboroxys sind außer zum allgemeinen Nachweis von Flavonen auch noch durch spezifische Reaktionen zur Unterscheidung verwendbar.

Für die Flavone werden, meist auf die Pflanzenquelle zurückgehend, Bezeichnungen mit Trivialnamen verwendet, deren Verwendung aber keinen Hinweis auf die Konstitution gibt. Aus diesem Grunde wird im

Tabelle 1
3-Oxyflavon-Aglucone und -Glucoside

OH-Gruppen	Glucosid	Tetraphenyl-diboroxyd		Phenylborsäure	
		Tageslicht	UV-Licht	Tageslicht	UV-Licht
3,5,7,2',4'	—	Gr, Fl	Gr	Gr	Gr
3,5,7,3',4'	—	GO	GO	G	—
3,5,7,3',4'-	3-rhamnosid	GO	GO	G	—
3,5,7,3',4'-	3-rhamnoglucosid	GO	GO	G	—
3,5,7,3',4'-	3-galactosid	RO	RO	G	—
3,7,3',4',5'	—	GO, GrFl	G, R	GO	GrG
3,5,7,4'	—	G	GGr	G	—
3,5,7,4'-	3-glucosid	G	GO	G	—
3,7,3',4'	—	GO	GGr, R	GO	—
3,7,3'(OCH ₃),4'	—	Gr, Fl	GGr	Gr, Fl	Gr
3,	—	G	GGr	—	G

5-Oxyflavon-Aglucone und -Glucoside

5,6,7,4'	—	GO	D	GO	—
5,6,7,4'-	glucuronsäure	(G)	—	(G)	—
5,7,3',4'	—	G	GO	G	(G)
5,7,3',4'(OCH ₃)	—	(G)	G	(G)	—
5,7,3',4'(OCH ₃)-	rhamnoglucosid	((G))	—	((G))	—
5,7,4'	—	(G)	(G)	(G)	—
5,7,4'-	7-apioseglucosid	((G))	(G)	((G))	—
5,7,4'(OCH ₃)	—	(G)	(G)	((G))	—
5,7,4'(OCH ₃)-	7-dirhamnosid	((G))	—	—	—
Vitexin	—	(G)	(G)	(G)	(G)
Vitexin-	rhamnosid	(G)	(G)	(G)	(G)

Catechin zeigt mit den beiden organischen Bor-Verbindungen, wie auch zu erwarten war, keine bathochrome Reaktion.

Für Vitexin und sein Glucosid stehen die Strukturformeln nicht fest.

Abkürzungen: G = Gelb, Gr = Grün, O = Orange, R = Rot, GO = Gelb-orange, RO = Rotorange, D = dunkel, Fl = Fluoreszenz, () = schwache, (()) = sehr schwache Färbung.

Versuchsteil die Stellung der Hydroxylgruppen der untersuchten Flavone dem Ausfall der bathochromen Reaktion gegenübergestellt werden, um den Zusammenhang sofort zu erkennen.

Über die Herkunft der untersuchten Flavone wird in einer nachfolgenden Arbeit berichtet.

Versuchsteil

Die zu untersuchenden Substanzen wurden zu je 100 mg/100 ml Methanol gelöst. 0,5 ml (= 0,5 mg) dieser Lösungen wurden verwendet. Das Tetraphenyldiboroxyd wurde zu 0,5% und die Phenylborsäure zu 1% in Methanol gelöst. Davon wurde jeweils 1 ml der Flavonlösung zugesetzt (vgl. Tab. 1, S. 331).

Verf. dankt Frl. ELISABETH BUHL für zuverlässige und eifrige Mitarbeit.

Literatur

- ¹ BRUNE, W.: Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **288/60**, 205 (1955). — ² NEU, R.: diese Z. **142**, 335 (1954). — Naturwissenschaften **43**, 82 (1956). — Chem. Ber. **87**, 802 (1954); **88**, 1761 (1955). — ³ TAUBÖCK, K.: Naturwissenschaften **30**, 439 (1942); vgl. auch diese Z. **138**, 424 (1953). — ⁴ WILSON, C. W.: J. Amer. chem. Soc. **61**, 2303 (1939); vgl. auch diese Z. **138**, 424 (1953). — ⁵ WILSON, C. W., L. S. WEATHERBY and W. Z. BOCK: Ind. Engng. Chem., analyt. Edit. **14**, 425 (1942). — ⁶ Unveröffentlicht.

Dr. R. NEU, in Fa. Dr. Willmar Schwabe GmbH., Karlsruhe-Durlach, Postfach 30

Aus dem Analytischen Labor der Forschungs- und Entwicklungsstelle
(Leitung: Dr.-Ing. G. BÜHLER) im VEB Chemiewerk Greiz-Dölau

Die Bestimmung geringer Phosphatmengen neben großen Mengen Vanadat

Von

S. HARTMANN

(Eingegangen am 29. März 1956)

Die Bestimmung von P_2O_5 neben V_2O_5 läßt sich nicht in einfacher Weise bewerkstelligen. Es sind deshalb in der Literatur sehr verschiedene Verfahren beschrieben, die sich vorzugsweise mit der P_2O_5 -Bestimmung in Ferrovandin und in vanadinhaltigen Stählen befassen. Fast alle diese Verfahren haben die der P_2O_5 -Bestimmung vorangehende Reduktion des V^{5+} zu V^{4+} bzw. V^{3+} gemeinsam. Als Reduktionsmittel für die Vanadinsäure verwenden I. R. CAIN u. F. H. TUCKER¹ Eisen(II)-sulfat, E. ROUSSEAU² Natriumnitrit, S. M. GUTMANN u. W. W. JEREMITSCH³ Hydroxylaminchlorhydrat, A. KROPP⁴ Citronensäure, G. IWANTSCHOFF u. A. MEUWSEN⁵ Hydrazinsulfat, K. SWOBODA¹⁰ Stahlspäne. Bei allen angeführten Verfahren wird die Phosphorsäure, nach Fällung als Ammoniumphosphormolybdat, entweder gravimetrisch oder maßanalytisch bestimmt.

Die Bestimmung der Phosphorsäure in Alkalivanadat-Alkaliphosphatsalzgemischen beschreibt G. HOLDER⁴. Die Reduktion erfolgt durch SO_2 ; durch Zugabe von Weinsäure wird das Vanadin komplex gebunden und anschließend die Phosphorsäure durch Fällung als $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bestimmt.

Von einigen Autoren wird die Abtrennung der Vanadinsäure vor der Phosphatfällung empfohlen. So scheiden C. M. JOHNSON⁶ die Vanadinsäure als V_2O_5 , W. A. TURNER¹¹ als Kupferronkomplex ab.

Bei dem Bauxit-Aufschluß nach BAYER wird ein vanadin- und phosphorhaltiges Salz als Nebenprodukt erhalten, dessen Aufarbeitung zu Vanadinverbindungen führt, die noch geringe P_2O_5 -Mengen enthalten. Es handelt sich bei diesen Vanadinverbindungen um Natriumorthovanadat, Ammoniummetavanadat und um Vanadinpentoxyd. Während der P_2O_5 -Gehalt im Natriumorthovanadat ($\text{Na}_3\text{VO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$; 22,75% V_2O_5) verhältnismäßig hoch liegt (0,5–4%), enthalten Ammoniummetavanadat (NH_4VO_3 ; 77,74% V_2O_5) und Vanadinpentoxyd außerordentlich wenig (0,01–0,2%) P_2O_5 .

Bisher verfuhr man in den hiesigen Laboratorien bei der P_2O_5 -Bestimmung in diesen Vanadinverbindungen so, daß man das Vanadin mit 8-Oxychinolin abtrennte und in der vom überschüssigen Oxychinolin befreiten Lösung das Phosphat nach Fällung als Ammoniumphosphormolybdat bestimmte. Die P_2O_5 -Bestimmung in Natriumorthovanadat liefert nach diesem Verfahren genaue Ergebnisse. Die sehr geringen P_2O_5 -Mengen in Ammoniummetavanadat und Vanadinpentoxyd werden aber nicht immer einwandfrei erfaßt.

Im folgenden soll ein Verfahren beschrieben werden, das eine genaue Bestimmung in allen drei genannten Materialien ermöglicht. Die Abtrennung des Vanadins wird nach der Reduktion mit Natriumsulfit an einer mit Wofatit F gefüllten Ionenaustauschersäule durchgeführt. Im Filtrat erfolgt dann die colorimetrische Phosphorbestimmung nach der sogenannten VM-Methode von G. MISSON⁸, die von S. GERICKE u. B. KURMIES² ausführlich beschrieben worden ist.

Beschreibung der Versuche

Die *Austauschersäule* (Wofatit F) hatte 3 cm Durchmesser und 11 cm Höhe. Zur Regeneration der Säule diente 5 m Salzsäure. — Bei der *colorimetrischen P_2O_5 -Bestimmung* hielt man sich genau an die Vorschrift von GERICKE u. KURMIES². Zur Messung wurde das lichtelektrische Colorimeter nach Dr. B. LANGE verwendet.

Arbeitsvorschriften

a) *Vanadinpentoxyd*. 400 mg Vanadinpentoxyd werden in 8 ml 2 n Natronlauge unter Erwärmen gelöst (eventuell Einengen bis fast zur Trockene). Nach der Zugabe von 120 ml Wasser wird mit 350 mg Natriumsulfit versetzt und mit 2–3 ml Schwefelsäure (1:1) angesäuert. Die Lösung wird erhitzt, bis sie eine rein blaue Farbe angenommen hat. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur gibt man

die Lösung durch die Austauschersäule und wäscht anschließend mit dest. Wasser nach, bis das Wasser die Säule säurefrei verläßt (Prüfung mit Methylorange). Nachdem das Filtrat — einschließlich Waschwasser — auf etwa 50 ml eingengt worden ist, kann darin das Phosphat colorimetrisch nach der oben angegebenen Vorschrift bestimmt werden.

b) *Ammoniummetavanadat*. 650 mg Ammoniummetavanadat werden mit 120 ml Wasser versetzt und erwärmt, bis alles Metavanadat gelöst ist. Nach Zugabe von 400 mg Natriumsulfit säuert man mit 2—3 ml Schwefelsäure (1:1) an. Im übrigen wird wie unter a) angegeben weitergearbeitet.

c) *Natriumorthovanadat*. 10 g Natriumorthovanadat werden in Wasser gelöst und die Lösung im Meßkolben zu 500 ml aufgefüllt. 50 ml dieser Lösung werden mit 200 mg Natriumsulfit und mit 1 ml Schwefelsäure (1:1) versetzt und zum Sieden erhitzt. Nach dem Verkochen des überschüssigen SO_2 kühlt man die Lösung ab und gibt sie durch die mit Wofatit F gefüllte Austauschersäule. Anschließend wäscht man solange mit dest. Wasser nach, bis das Filtrat nicht mehr sauer reagiert.

Die wofatierte Lösung wird zu 500 ml aufgefüllt und 50 ml davon werden für die colorimetrische P_2O_5 -Bestimmung entnommen.

Ergebnisse

In Natriumorthovanadat erhält man, wie S. 333 angegeben, nach dem Verfahren der Abtrennung des Vanadins als Oxinat und anschließender gravimetrischer Phosphatbestimmung genaue P_2O_5 -Werte. Wir haben nun vergleichende Bestimmungen nach diesem gravimetrischen Verfahren und der neuen colorimetrischen Methode ausgeführt. Aus Tab. 1 ist zu entnehmen, daß die Ergebnisse beider Verfahren sehr befriedigend übereinstimmen. Da die colorimetrische Arbeitsweise einfacher und rascher durchzuführen ist, wird man sie dem älteren Verfahren vorziehen.

Die sehr kleinen Phosphatgehalte in Ammoniummetavanadat und in Vanadinpentoxyd werden gravimetrisch oft nicht einwandfrei erfaßt. Dies ist verständlich: Wählt man eine hohe Einwaage, so ist es sehr schwierig, das Vanadinoxinat quantitativ abzuschneiden. Im Filtrat verbleibende Vanadinreste veranlassen aber zu hohe Resultate bei der Phosphatbestimmung als Ammoniumphosphormolybdat. Andererseits können mehr oder weniger große P_2O_5 -Mengen bei der Fällung des Vanadinoxinates mitgerissen werden und dadurch der Bestimmung entgegen. Bei kleinen Einwaagen ist eine glatte Abtrennung des Vanadins möglich, die sehr geringe Auswaage an Ammoniumphosphormolybdat gibt aber zu Fehlern Anlaß.

Die Tab. 1 zeigt eine Gegenüberstellung der nach den beiden Verfahren erhaltenen P_2O_5 -Werte.

Zur Prüfung, ob bei der Abtrennung des Vanadins durch Ionenaustausch etwa ein Teil der Phosphorsäure adsorptiv am Austauscher festgehalten wird, wurde folgendermaßen verfahren: Einem Vanadinpentoxyd, in dem colorimetrisch nur Spuren P_2O_5 ($< 0,01\%$) festgestellt worden waren, wurden verschiedene Mengen P_2O_5 zugesetzt. Der P_2O_5 -Zusatz geschah in Form von KH_2PO_4 -Lösung, bevor die reduzierte Lösung

Tabelle 1. P_2O_5 -Bestimmung in Natriumorthovanadat, Vanadinpentoxyd und Ammoniummetavanadat

Probe-Nr.	P_2O_5 (%)	
	gravimetrisch	colorimetrisch
Natriumorthovanadat		
1	1,55	1,55
2	1,35	1,32
3	3,5	3,4
4	0,54	0,55
Vanadinpentoxyd		
1	0	0,20
2	Spuren	0,015
3	0	Spuren
Ammoniummetavanadat		
1	0,1	0,022
2	Spuren	0,045
3	0,145	0,08
4	0,133	0,126

Tabelle 2

Colorimetrische Bestimmung zugesetzter Phosphatmengen in Vanadinpentoxyd

V_2O_5 (mg)	Phosphatzusatz		gefunden % P_2O_5
	mg P_2O_5	% P_2O_5	
400	0,2	0,05	0,05
400	0,4	0,1	0,10
400	1,2	0,3	0,30
400	4,0	1,0	1,04

durch die Austauschersäule gegeben wurde. Die zugesetzte P_2O_5 -Menge wurde quantitativ in der wofatierten Lösung wiedergefunden (Tab. 2). Eine meßbare Adsorption findet also nicht statt.

Zusammenfassung

Es wird ein neues Verfahren zur Bestimmung geringer P_2O_5 -Mengen neben großen Mengen V_2O_5 beschrieben. Die Abtrennung des Vanadins geschieht dabei durch Ionenaustausch, während die Bestimmung des Phosphors in den vanadinfreien Eluatn colorimetrisch erfolgt. Das Verfahren wurde vorzugsweise an P_2O_5 -haltigen Vanadinpentoxyden, Ammoniummetavanadaten und Natriumorthovanadaten erprobt und hat sich hierbei bestens bewährt.

Herrn Ing.-Chem. G. MARTENS, der mir bei der Beschaffung der erforderlichen Vanadinverbindungen jederzeit in großzügiger Weise behilflich war, sei an dieser Stelle herzlichst gedankt.

Literatur

- ¹ CAIN, J. R., und F. H. TUCKER: J. Franklin Inst. **175**, 531 (1913); vgl. diese Z. **53**, 194 (1914). — ² GERICKE, S., u. B. KURMIES: diese Z. **137**, 15 (1952/53). — ³ GUTMANN, S. M., und W. W. JEREMITSCHEW: Zavodskaja Laborat. (Betriebslab. **8**, 1218 (1939). — ⁴ HOLDER, G.: diese Z. **128**, 231 (1948). — ⁵ IWANTSCHIEFF, G., u. A. MEUWSEN: Z. anorg. allg. Chem. **251**, 45 (1943). — ⁶ JOHNSON, C. M.: Ind. Engng. Chem. **11**, 113 (1919); vgl. diese Z. **59**, 248 (1920). — ⁷ KROPP, A.: Chemiker-Ztg. **41**, 877 (1917); vgl. diese Z. **63**, 48 (1923). — ⁸ MISSON, G.: Chemiker-Ztg. **32**, 633 (1908); vgl. diese Z. **56**, 402 (1917). — ⁹ ROUSSEAU, E.: Chim. et Ind. **21**, 147 (1929). — ¹⁰ SWOBODA, K.: Österr. Chemiker-Ztg. **27**, 110 (1924). — ¹¹ TURNER, W. A.: Amer. J. Sci. **42**, 109 (1916); vgl. diese Z. **61**, 64 (1922).

Chem.-Ing. SIEGFRIED HARTMANN, Greiz-Obergrochlitz/Thür., Am Heidehang 31

Aus der Chemischen Abteilung des Balneologischen Institutes bei der Univ. München
(Vorstand: Prof. Dr. S. W. SOUCI)

Studien zur anorganischen Papierchromatographie

2. Mitteilung

Der Nachweis der Alkali- und Erdalkalimetalle

Von

G. SOMMER

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. April 1956)

In einer vorangegangenen Mitteilung¹⁴ wurden die für die Papierchromatographie von Kationen wesentlichen Faktoren eingehend behandelt. Auf diesen Untersuchungen aufbauend soll nun über die praktische Anwendung zur Analysierung der Alkali- und Erdalkaligruppe berichtet werden.

Der Nachweis dieser Metalle in einer Operation ist meines Wissens bisher nur von H. ERLÉNMEYER u. Mitarb.⁶ sowie von Z. TAMURA¹⁷ beschrieben worden. Über die gesonderte Trennung der Alkalimetalle^{1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 13, 15, 18} wie auch der Erdalkalimetalle^{1, 4, 7, 8, 9, 11, 12, 16} liegen hingegen eine beachtliche Anzahl von Vorschlägen vor.

Beiderpapierchromatographischen Analyse eines Stoffgemisches erfolgt die Kennzeichnung eines Bestandteiles einerseits durch die Wanderungsgeschwindigkeit, andererseits vornehmlich durch Farbreaktionen mit bestimmten Reagentien. In allen Fällen muß die Nachweisreaktion um so spezifischer sein, je unspezifischer die Wanderungsgeschwindigkeit ist und umgekehrt. Entscheidend für die Eindeutigkeit der letzteren ist nicht die Einstellung eines Standard-R_F-Wertes, sondern eine von den anderen Ionen so weit abweichende Wanderungsgeschwindigkeit, daß nach dem

Entwickeln und Sichtbarmachen keine Überschneidung mit einem anderen Fleck vorhanden ist. Der R_f -Wert als absolute Zahl spielt demnach keine Rolle. An seine Stelle tritt die „chromatographische Reihenfolge“ wie sie von der Säulenchromatographie bekannt ist. Die Orientierung erfolgt an Hand eines Leitchromatogramms.

Einen variablen R_f -Wert als spezifisch zu bezeichnen, mag zunächst befremden. Es ist jedoch bei „echten Analysen“ — im Gegensatz zu Trennungen von „Idealgemischen“ — trotz sorgfältigster Arbeitsweise nicht möglich, jeden Fleck im normalen Streubereich der statistisch gesicherten R_f -Werte unterzubringen; dennoch ist an Hand der Aufeinanderfolge der Flecken eine Identifizierung möglich. Die Charakterisierung der einzelnen Bestandteile (x , y , z) erfolgt einfach durch die Beziehung: $R_{fx} > R_{fy} > R_{fz}$.

Die Analysierung eines unbekannten Gemisches setzt eine genaue Kenntnis des Verhaltens der Einzelbestandteile voraus, weshalb zunächst an den einzelnen Kationen die Auswirkungen verschiedener analytisch wichtiger Einflüsse aufgezeigt werden sollen.

1. Lösungsmittel und R_f -Werte

Wie aus der in der 1. Mitteilung gegebenen tabellarischen Zusammenstellung über die Verteilung der Kationen mit verschiedenen Lösungsmitteln hervorgeht, eignet sich zur Trennung der Alkali- und Erdalkalimetalle, wie auch der Mischungen beider recht gut ein Gemisch von Methanol, Salzsäure (D 1,19) und Wasser im Verhältnis von 80:10:10. Nach einer relativ kurzen Laufzeit von 3 Std bei Raumtemperaturen um 20° C ergeben sich für die Kationen die in Tab. 1 angeführten Fleckpositionen. Bezüglich der Einzelheiten der Ausführung sei auf die Arbeitsvorschrift verwiesen.

Tabelle 1. Mittlere R_f -Werte der Alkali- und Erdalkali-Ionen mit Methanol-Salzsäure-Wasser (80:10:10)

Technik: aufsteigend Laufzeit: 3 Std		Papier: S & S 2043 b Temperatur: 20° C	
Kation	R_f	Kation	R_f
Beryllium	0,85	Lithium	0,74
Magnesium	0,70	Ammonium	0,43
Calcium	0,47	Natrium	0,31
Strontium	0,26	Kalium	0,12
Barium	0,11	Rubidium	0,12
		Cäsium	0,12

Daß solche Standard- R_f -Werte nicht immer erreicht werden, ist eine heute wohl allseits bekannte Tatsache. In der Regel gehen die Abweichungen nicht über $\pm 0,03$ hinaus.

Aus bisher unerfindlichen Gründen zeigen gelegentlich Chromatogramme trotz normaler Entwicklungstemperatur erheblich niedrigere

R_f -Werte. Höhere R_f -Werte werden dagegen ausgesprochen selten erreicht (Tab. 2).

Tabelle 2. Bei 20° C erhaltene niedrigste und höchste R_f -Werte in Serienschromatogrammen der 9 Kationen

Kation	R_f	R_f	Kation	R_f	R_f
Beryllium	0,86	0,61	Lithium	0,74	0,61
Magnesium	0,70	0,58	Ammonium	0,47	0,35
Calcium	0,52	0,39	Natrium	0,34	0,24
Strontium	0,31	0,22	Kalium	0,16	0,09
Barium	0,13	0,09			

Stets trifft es alle Kationen gleichsinnig. Fleckenfolge und fast stets auch Fleckentrennung bleiben bei geschrumpftem Abstand erhalten. Die Ursache der Abweichungen ist anscheinend in einer verzögerten, vielleicht auch verhinderten Gleichgewichtseinstellung des chromatographischen Systems zu suchen. Keinesfalls handelt es sich um ein durch Temperaturänderung *verschobenes* Gleichgewicht. Die Temperaturempfindlichkeit ist nach den bisherigen Erfahrungen im normalen Chromatographiebereich von 18—22° C unerheblich, sofern die Umgebung des Entwicklungsgefäßes gleichmäßig temperiert ist. Die Auswirkungen größerer Temperaturunterschiede sind in Tab. 3 veranschaulicht.

Tabelle 3. Abhängigkeit der R_f -Werte der Alkali- und Erdalkalimetalle von der während des Chromatographierens herrschenden Temperatur

Kation	R_f -Werte bei einer Temperatur von					
	0° C	10° C	20° C	30° C	37° C	56° C
Lithium	0,69	0,70	0,74	0,75	0,77	0,82
Magnesium . . .	0,64	0,64	0,69	0,73	0,75	0,80
Calcium	0,39	0,41	0,47	0,53	0,56	0,64
Natrium	0,26	0,27	0,31	0,39	0,42	0,50
Strontium	0,21	0,21	0,26	0,32	0,36	0,46
Kalium	0,07	0,09	0,12	0,16	0,21	0,32
Barium	0,07	0,08	0,10	0,13	0,18	0,27

Die Chromatogramme dieser Versuchsreihe wurden zur selben Zeit unter genau gleichen Bedingungen bis zu einer festgelegten Steighöhe des Lösungsmittels von 20,5 cm entwickelt. Die Temperierung der mit Lösungsmittel beschickten Entwicklungsgefäße erfolgte 4 Std vor Beginn. Die gemessenen Temperaturen beziehen sich auf den Innenraum der Gefäße.

2. Die Gegenwart verschiedener Anionen

Normalerweise wird den zu chromatographierenden Kationen ein Anion beigeordnet, das der Säure des Lösungsmittels entspricht. Sind jedoch in einer Untersuchungslösung darüber hinaus weitere Anionen enthalten, so ist deren Einfluß auf den Wanderungsverlauf der Kationen

von erheblichem Interesse. Zur Klärung des Einflusses verschiedener Anionen wurden einige Erdalkalien in Form verschiedener Salze chromatographiert. Die hergestellten Lösungen — in 2n Salzsäure — waren 1% ig, bezogen auf das Kation. Von Calciumsulfat kam eine gesättigte Lösung zur Anwendung (Tab. 4).

Tabelle 4. R_f -Werte der Kationen verschiedener Erdalkalisalze

Kation	Anion:					
	Chlorid	Nitrat	Sulfat	Phosphat	Acetat	Perchlorat
Magnesium . .	0,65	—	0,65	—	0,64	0,65
Calcium . . .	0,39	0,39	0,39	0,40	—	—
Strontium . .	0,22	0,22	—	—	—	—
Barium	0,09	0,09	—	—	0,09	—

Das Ergebnis dürfte trotz des nicht allzu reichhaltigen Sortiments beweisen, daß das ursprünglich vorhandene Anion die Wanderung des Kations nicht beeinflusst.

Zur Ergänzung sei noch ein Versuch angeführt, bei dem zu 0,1% igen Kationenlösungen (Chlorid als Anion) jeweils verschiedene 1% ige Anionenlösungen (Natrium als Kation) zugesetzt wurden. Da gleiche Volumina (0,002 ml) zur Anwendung kamen, war im startfertigen Fleck ein 10facher „Fremdanionen“-Überschuß gegeben. Auch hier blieben die resultierenden R_f -Werte mit wenigen Ausnahmen in den Grenzen der üblichen Fehlerbreite (Tab. 5).

Tabelle 5. Der Einfluß verschiedener Anionenzusätze auf den R_f -Wert der Erdalkalien

3 µg Metall	gelöst als	aufgetragen unter Zusatz von 30 µg					
	Chlorid R_f	Sulfat R_f	Nitrat R_f	Phosphat R_f	Fluorid R_f	Oxalat R_f	Acetat R_f
Magnesium . .	0,71	0,72	0,73	0,74	0,66	—	0,72
Calcium . . .	0,42	0,42	0,44	0,44	0,44	0,45	—
Strontium . .	0,23	0,17	0,26	0,25	0,28	0,28	—
Barium	0,09	0	0,09	0,09	0,09	0,10	0,09

Daß Bariumsulfat durch den Sulfatzusatz gefällt wird und nicht mehr wandert, war vorauszusehen. Überraschenderweise ist das Löslichkeitsprodukt von Strontiumsulfat hingegen bereits so groß, daß die Wanderung nur verzögert, nicht aber unterbunden wird. Eine unerwartete Störung durch ein Anion wird nur beim Magnesium beobachtet. Hier wandert das Fluor-Ion nur unwesentlich schneller als das Magnesium-Ion und hindert es dadurch, seinen gewohnten Platz einzunehmen. Darüber hinaus ist über den Verbleib der Anionen recht wenig bekannt. Sicher ist nur, daß sie getrennt von den Kationen wandern. Phosphat erscheint beispielsweise mit einem R_f -Wert von 0,92, unabhängig von den anwesenden

Kationen. Die verschiedentlich etwas höheren R_f -Werte des Strontiums sind nicht durch die Anionen veranlaßt, sondern durch das gleichzeitig anwesende Natrium-Ion bedingt. Auf die gegenseitige Beeinflussung der Kationen wird noch an anderer Stelle zurückzukommen sein.

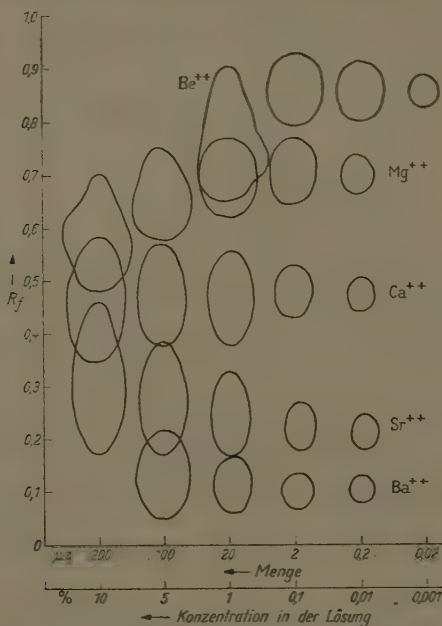


Abb. 1. Einfluß der Konzentration des Ions auf Fleckenform und Wanderung bei der papierchromatographischen Trennung der Erdalkalien

3. Die Konzentration des Kations, Auswirkungen auf Fleckenform und Wanderung

Von großer Bedeutung für die angewandte Papierchromatographie ist der Einfluß der Konzentration eines Ions auf Wanderungsgeschwindigkeit und Form des Fleckens. Die einzelnen Kationen verhalten sich dabei durchaus unterschiedlich.

Ein ideales Verhalten zeigt Calcium. Angefangen von dem runden Fleck der kleinsten nachweisbaren Menge bis zu dem ovalen Fleck eines 0,002 ml Tropfens einer 10%igen Lösung findet durch alle Konzentrationen ein gleichmäßiges Anwachsen der Flecke unter leichter Bevorzugung der Längsachse statt. Der R_f -Wert bleibt über einen 10000fachen Konzentrationsunterschied unverändert. Ähnlich verhält sich Kalium. Magnesium, Lithium und Beryllium, die zunächst ebenfalls ein regelmäßiges Anwachsen der Flecke erkennen lassen, formen von einer bestimmten Konzentration ab unregelmäßige tropfenartige Gebilde mit abfallender

Wanderungsgeschwindigkeit. Strontium zeigt mit steigenden Konzentrationen neben einer geringen Verbreiterung vor allem eine Verlängerung der Flecke nach oben, während die unteren Ränder in etwa gleicher Höhe verharren. Ein ähnliches Verhalten weist Natrium auf. Ammonium und Barium nehmen eine Mittelstellung zwischen dem Verhalten des Calciums und des Strontiums ein. Bemerkenswert

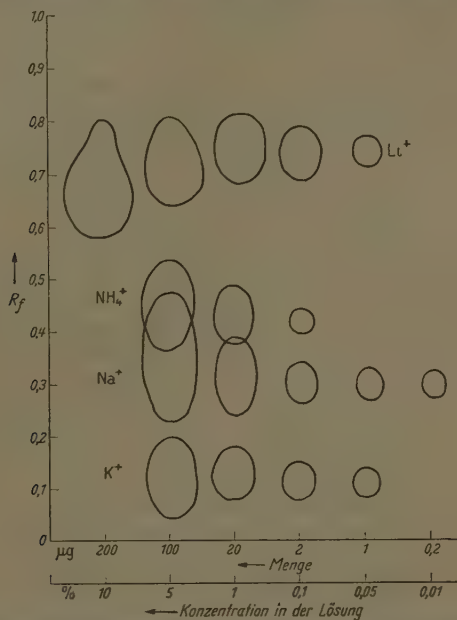


Abb. 2. Einfluß der Konzentration des Ions auf Fleckenform und Wanderung bei der papierchromatographischen Trennung der Alkalien

scheint, daß die Kationen mit ähnlichen Fleckenverformungen auch ähnliche R_f -Werte innehaben (vgl. hierzu die Abb. 1 u. 2).

4. Gegenseitige Beeinflussung der Kationen

Wie schon erwähnt, kann die Wanderung eines Kations durch ein anderes gestört werden. Während sich die Flecke von Kationen ähnlicher Wanderungsgeschwindigkeit unter normalen Verhältnissen einfach überlappen — d. h. jeder sich so verhält, als ob er allein vorhanden wäre —, kann bei hoher Konzentration des einen eine Verdrängung oder anderweitige Hinderung des anderen eintreten. Die Verdrängung erfolgt nicht willkürlich, sondern richtet sich streng nach den Wanderungsgeschwindigkeiten. Ionen, die etwas schneller laufen als der hochkonzentrierte Fleck, werden zusätzlich beschleunigt, langsamere etwas gebremst. In bestimmten Fällen bleibt eine gewisse Überlappung erhalten, in anderen

tritt eine deutliche Scheidung, meist unter Verformung des schwächeren Flecks, ein. Das ist vielleicht so zu erklären, daß im ersten Fall die Adsorptionskapazität des Papiers größer ist als die Menge des Hauptstoffes, also noch ein weiteres Ion adsorbiert werden kann, während im anderen Fall die Konzentration des Hauptflecks der örtlichen Aufnahmefähigkeit des Papiers äquivalent ist bzw. sie übersteigt (vgl. Tab. 6).

Tabelle 6. Gegenseitige Beeinflussung der Erdalkali-Ionen in binären Mischungen

zuge setzte Lösung	0,1%ige Lösung von							
	Mg		Ca		Sr		Ba	
	zuge setztes Kation	Magnesium	zuge setztes Kation	Calcium	zuge setztes Kation	Strontium	zuge setztes Kation	Barium
	R_f	R_f	R_f	R_f	R_f	R_f	R_f	R_f
0,1%ige Lg. von Mg			0,72	0,48	0,70	0,24	0,69	0,10
1			0,70	0,48	0,68	0,24	0,69	0,11
10			0,53	0,37	0,53	0,20	0,51	0,09
0,1%ige Lg. von Ca	0,49	0,70			0,41	0,24	0,48	0,10
1	0,49	0,70			0,41	0,24	0,49	0,10
10	0,49	0,65			0,42	0,23	0,50	0,11
0,1%ige Lg. von Sr	0,22	0,69	0,23	0,41			0,23	0,10
1	0,26	0,69	0,24	0,42			0,25	0,10
10	0,31	0,68	0,32	0,47			0,33	0,10
0,1%ige Lg. von Ba	0,09	0,70	0,10	0,42	0,10	0,24		
1	0,11	0,69	0,11	0,43	0,11	0,24		
5	0,13	0,70	0,14	0,44	0,12	0,26		

Anmerkung: Stark beeinflusste Flecke sind durch **Fettdruck**, leicht verformte Flecke durch *Kursivdruck* hervorgehoben. Da die Versuchsgruppen auf mehrere Chromatogramme verteilt werden mußten, stimmen die gruppenweisen R_f -Werte nicht immer überein (Ca!).

Versuchsanordnung: 0,003 ml Starttupfel 0,1%iger Lösungen wurden getrocknet, dann mit gleichen Volumen 0,1%iger, 1%iger und 10%iger bzw. 5%iger (Ba ist zu 10% in 2 n HCl nicht mehr löslich) Lösungen eines anderen Kations versetzt und nach dem Eintrocknen chromatographiert.

Wie aus den R_f -Werten der Tab. 6 ersichtlich ist, treten bei Konzentrationen der Kationen bis zu 1% keine Störungen auf. Darüber hinaus gehende Mengen hingegen können beachtliche Verschiebungen und Verformungen verursachen.

Eine Magnesiumkonzentration von 10% im Starttupfel wirkt sich auf alle langsamer wandernden Kationen aus. Calcium wird erheblich erniedrigt und erscheint eng angeschmiegt am unteren Rand des Magnesiumflecks. Der Strontiumfleck ist U-artig verformt und etwas gedrückt. Selbst der räumlich weit entfernte Bariumfleck wird noch etwas abgeplattet.

300 μg Calcium (0,003 ml einer 10%igen Lösung) im Starttöpfel bewirken neben einer geringen Abplattung der Strontiumzone vor allem eine Verformung und Hinderung des Magnesiumflecks.

Strontium, als 10%ige Lösung aufgetragen, beeinflußt nur das auf dem Chromatogramm über ihm stehende Calcium. Dessen angehobene Zone erscheint kappenförmig anliegend am oberen Teil des Strontiumflecks.

Größere Bariumkonzentrationen führen lediglich zu einer Abplattung und einem leichten Anheben des Strontiumflecks.

In gleicher Weise wirken sich Zusätze an Alkali-Ionen aus. Magnesium wird durch 10% Lithium gehindert; es entsteht ein ausgedehnter Fleck, in dem beide Metalle schwer zu unterscheiden sind. Größere Natriumkonzentrationen heben die Calciumzone etwas an. Kalium bewirkt nur in Form eines 5%igen Zusatzes eine beschleunigte Wanderung des Bariums und Strontiums.

5. Farbreaktion und Nachweisgrenze

Die Wahl der Identifizierungsreaktion hängt weitgehend von der Fragestellung ab. Um schnell einen Überblick zu gewinnen, wird man ein möglichst universelles Reagens verwenden. Es setzt allerdings wegen einer meist ziemlich gleichförmigen Ausfärbung ausreichende R_f -Unterschiede der in Betracht kommenden Flecke voraus. Für den Spurennachweis benützt man die jeweils empfindlichsten Reagentien, während bei unvollkommenen Trennungen die einzelnen Bestandteile durch möglichst spezifische Reaktionen nebeneinander zu ermitteln sind.

Für die Erdalkaligruppe liegen die Verhältnisse recht günstig. Die Reaktion mit Oxychinolin in ammoniakalischem Milieu ist nicht nur universell, sondern auch ausgesprochen empfindlich (Tab. 7). Die Spezifi-

Tabelle 7. Grenzkonzentration und Erfassungsgrenze der Erdalkalien und des Lithiums auf dem Chromatogramm durch Besprühen mit Oxychinolin und Ammoniak

Kation	Fluoreszenz im UV-Licht	Grenzkonzentration der Lösung in %	Erfassungsgrenze μg in 0,002 ml
Beryllium . . .	gelb	0,001	0,02
Magnesium . . .	gelbgrün	0,005	0,1
Calcium	gelbgrün	0,0025	0,05
Strontium . . .	gelbgrün oder hellblau*	0,01	0,2
Barium	gelbgrün oder hellblau*	0,01	0,2
Lithium	hellblau	0,1	2

* Ein kräftiger Überschuß an Reagens und Ammoniak führt zu blauen Flecken

tät innerhalb der Gruppe ist durch die weit auseinanderliegenden Flecke gegeben. Bei den Alkalimetallen war es bislang nicht möglich, ein Reagens mit genügender Empfindlichkeit für alle Ionen zu finden. Die von ERLENMEYER, v. HAHN u. SORKIN⁶ verwendete Violursäure eignet sich für den vorliegenden Fall nicht. Das von WEISS u. FALLAB¹⁹ vorgeschlagene Quercetin reagiert wohl mit sehr vielen Metallen, ist aber in der Alkaligruppe nicht sehr empfindlich. Kleinere Mengen Natrium und Lithium

erfaßt man besser durch Besprühen mit einer gesättigten Zinkuranylacetatlösung in 5% iger Essigsäure. Unter dem UV-Licht fluorescieren die Flecke blaugrün. Die Reaktion ist jedoch nicht spezifisch. Größere Mengen von Magnesium, Ammonium, Calcium, Barium und Kalium können ebenso reagieren. Durch die R_f -Werte lassen sie sich meist ausreichend unterscheiden. Schwierig ist nur der eindeutige Nachweis von Lithium neben größeren Magnesiummengen. Der Nachweis des Kalium- und Ammonium-Ions mit Quercetin, Dilitursäure oder Pikrolonsäure wird nur in wenigen Fällen befriedigen, da die Reagentien auf Konzentrationen unter 0,5% nicht mehr sicher ansprechen. Eindeutiger und empfindlicher ist der Nachweis über das entsprechende Hexanitrosokobaltat(III). Die Intensität der Flecken kann verstärkt werden, wenn nach vollständigem Auswaschen des Reagensüberschusses das im Niederschlag vorhandene Kobalt mit α -Nitroso- β -naphthol oder Rubeanwasserstoff umgesetzt wird. Eine Erfassung noch kleinerer Mengen ist damit nicht verbunden, da die Nachweisgrenze durch die Löslichkeit des Niederschlags beim Auswaschen gegeben ist. Das Ammoniumhexanitrosokobaltat ist etwas weniger schwer löslich, deshalb auch die geringere Empfindlichkeit (Tab. 8).

Tabelle 8. Grenzkonzentration und Erfassungsgrenze der Alkalien auf dem Chromatogramm durch Besprühen mit verschiedenen Reagentien

Reagens	Lithium		Natrium		Kalium		Ammonium	
	Grenzkonzentration %	Erfassungsgrenze μg	Grenzkonzentration %	Erfassungsgrenze μg	Grenzkonzentration %	Erfassungsgrenze μg	Grenzkonzentration %	Erfassungsgrenze μg
Quercetin	0,1	2	0,5	10	0,5	10	0,5	10
Zinkuranylacetat .	0,05	1	0,05	1	2	40	1	20
Natriumhexanitrosokobaltat	—	—	—	—	0,01	0,2	0,1	2

Beim Spurennachweis stören die im Papier enthaltenen anorganischen Verunreinigungen sehr stark. Sie werden am einfachsten beseitigt, indem man den leeren Bogen über Nacht mit dem Lösungsmittel absteigend durchwäscht, anschließend an der Luft trocknet.

Die in den Tabellen angeführten Grenzkonzentrationen und Erfassungsgrenzen wurden für jedes Kation gesondert ermittelt. Sie können nur Richtzahlen, keine absoluten Werte darstellen. Die Sprühtechnik bietet wenig Möglichkeiten, reproduzierbar zu arbeiten, der Bereich der unsicheren Reaktion ist daher groß. Auch die Konzentrationsangabe eines Sprühmittels erscheint problematisch, da die aufgebrachte Menge von der Intensität der Besprühung abhängt. Diese Nachteile sind beim Tauchverfahren vermieden. Schwierigkeiten ergeben sich hier, wenn die gebildete Verbindung in der Badeflüssigkeit nicht unlöslich ist.

Wie 16 Beleganalysen gezeigt haben, werden die für die einzelnen Kationen geltenden Erfassungsgrenzen in komplizierteren Mischungen vielfach nicht erreicht. Eine Ausnahme bildet nur das NH_4 -Ion, dessen Grenzkonzentration an sich schon ziemlich hoch liegt. Für den sicheren Nachweis der anderen Kationen war teilweise eine bis zu 10fache Grenzmenge erforderlich.

6. Störungen durch Kationen anderer Gruppen

Bei Analysenproben, die nur geringe Mengen von Metallen anderer Gruppen enthalten, kann mitunter auf deren vorherige Abtrennung verzichtet werden, soweit ihre Identifizierung nicht wünschenswert erscheint.

An sich besteht durchaus die Möglichkeit, die Erfassung einiger weiterer Ionen, so z. B. Eisen, Kupfer, Blei, Arsen in den Analysengang einzubauen, doch würde ein Eingehen hierauf den Rahmen des Themas überschreiten.

Aus der Anwesenheit kann sich jedoch für den Nachweis der Alkalien und Erdalkalien eine Reihe von Störungen ergeben, die indessen nur die Flecke des Berylliums, Lithiums und Magnesiums betreffen, da die Kationen der anderen Gruppen fast ausschließlich R_f -Werte von 0,65 bis 0,90 einnehmen (Tab. 9).

Tabelle 9. Mögliche Störungen des Nachweises von Beryllium, Magnesium und Lithium durch Kationen anderer Gruppen (Chromatogramm besprüht mit Oxychinolin und Ammoniak)

	R_f	Farbe im UV-Licht	Störungen
Be	0,85	gelb	o: Zn, Sn, Cd (0,9; goldgelb); Al (0,8; gelbgrün) *: Hg (0,9; schwarz); Bi (0,8; schwarz)
Li	0,74	hellblau	o: Al (0,8; gelbgrün)
Mg	0,70	gelbgrün	*: Fe, Co, Ni, Mn, Cu, Ti, UO_2 (0,65—0,75; schwarz)

o = Vortäuschung durch (in Klammern: R_f -Wert und Farbe)

* = Überdeckung oder Verschiebung durch (in Klammern: dgl.)

Arbeitsvorschrift

Apparatur. Weckgläser von 5 l Inhalt. Die Gefäße werden direkt mit 100 ml Lösungsmittel beschickt und bleiben zur Sättigung der Gasphase 3 Std stehen.

Lösungsmittel. 80 ml Methanol werden mit 10 ml Wasser und 10 ml konz. Salzsäure (D 1,19) versetzt. Alle Reagentien müssen analysenrein sein. Die Mischung kann längere Zeit Verwendung finden.

Papier. Schleicher & Schüll Nr. 2043 b in Bogengrößen von 25×30 cm. Startlinie 2,5 cm vom unteren Rand; Abstand der Flecke voneinander 3 cm, vom Rand mindestens dieselbe Entfernung. Die Fixierung des Papiercylinders erfolgt durch geschlitzte Polyäthylenscheibchen. Der Bogen wird zweckmäßig vor Gebrauch mit dem Lösungsmittel durchgewaschen (vgl. S. 344).

Laufzeit und Laufrichtung. Bei 20°C etwa 3 Std; die Flüssigkeit steigt währenddessen rund 20 cm hoch.

Arbeitsweise. Von einer festen Probe wird eine etwa 10%ige Lösung in verdünnter (etwa 2 n) Salzsäure hergestellt. Ein Teil davon wird unverändert, ein anderer

1 zu 10 verdünnt auf das Chromatogramm aufgebracht. Flüssige Proben werden auf ähnliche Konzentrationen eingestellt.

Auf den ersten Startpunkt des Bogens kommt als Leitsubstanz eine Mischlösung, enthaltend je 1% Kalium und Ammonium. Die nächsten Startpunkte werden mit der Untersuchungslösung in verschiedenen Verdünnungen besetzt. Nach einem vergrößerten Zwischenraum folgt als Leitsubstanz eine Mischlösung von Natrium und Lithium, anschließend wieder die Proben. Nach einem weiteren Zwischenraum wird eine Mischlösung der Erdalkalien, etwa 0,2%ig je Kation, aufgetragen. Die restlichen Startpunkte nimmt wiederum die Probelösung in verschiedener Verdünnung ein. Man trocknet $\frac{1}{2}$ Std bei Raumtemperatur und setzt dann den zum Zylinder gerollten Bogen in das Entwicklungsgefäß ein. Nach entsprechendem Aufstieg des Lösungsmittels entnimmt man den Bogen und trocknet an der Luft, ggf. mit einem Föhn, bis das Chromatogramm jeden stehenden Geruch verloren hat.

Der Bogen wird an den Zwischenräumen zerschnitten und der Teil mit Kalium und Ammonium als Leitsubstanzen langsam durch eine 10%ige wäßrige Natriumhexanitrosokobaltatlösung gezogen. Nach leichtem Antrocknen wäscht man das überschüssige Reagens gründlich mit dest. Wasser aus. Es erscheinen dann die gelben Flecke des Kaliums und Ammoniums. Das Teilstück mit den Leitelementen Natrium und Lithium besprüht man kräftig mit einer gesättigten Lösung von Zinkuranylacetat in 5%iger Essigsäure. Unter dem UV-Licht erscheinen grün fluoreszierende Flecke, deren R_f -Werte mit denen der Leitsubstanzen verglichen werden. Der letzte Teil des Chromatogramms wird nach Abtrennung der nicht benötigten Bahnen mit einer 1%igen alkoholischen Oxychinolinlösung besprüht und getrocknet. Nun besprüht man kräftig mit konzentriertem Ammoniak und bringt das gut durchfeuchtete Papier sofort unter die schon eingebrennte Analysenquarzlampe. Barium und Strontium fluorescieren türkisfarben, Calcium und Magnesium gelbgrün, Beryllium gelb. Die überschüssigen Bahnen können für weitere Identifizierungsreaktionen verwendet werden.

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren beschrieben, das den Nachweis der Alkali- und Erdalkalimetalle auf einem Chromatogramm gestattet. Mengen von 2 μ g und zum Teil noch darunter, können erfaßt werden. Die bei der praktischen Anwendung auftretenden Schwierigkeiten werden eingehend behandelt.

Literatur

- ¹ BARNABAS, J.: *Naturwissenschaften* **42**, 153 (1955); vgl. diese Z. **148**, 131 (1955/56). — ² BARNABAS, T., M. G. BADVE u. J. BARNABAS: *Naturwissenschaften* **41**, 478 (1954); vgl. diese Z. **147**, 69 (1955). — ³ BURMA, D. P.: *Anal. chim. Acta* **9**, 513 (1953); vgl. diese Z. **144**, 128 (1955). — ⁴ BURSTALL, F. H., G. R. DAVIES, R. P. LINSTADT and R. A. WELLS: *J. chem. Soc. (London)* **1950**, 516; vgl. diese Z. **137**, 36 (1952/53). — ⁵ CHAKRABARTY, S., and D. P. BURMA: *Sci. and Cult. (Calcutta)* **16**, 485 (1951); vgl. diese Z. **144**, 129 (1955). — ⁶ ERLÉNMEYER, H., H. v. HAHN u. E. SORKIN: *Helv. chim. Acta* **34**, 1419 (1951); vgl. diese Z. **137**, 123 (1952/53). — ⁷ HARASAWA, S.: *J. chem. Soc. Japan, pure Chem. Sect.*: **73**, 207, 210 (1952); vgl. *Chem. Zbl.* **125**, 4219 (1954). — ⁸ MAGEE, R. J., and J. B. HEADRIDGE: *Analyst* **80**, 785 (1955). — ⁹ MILLER, C. C., and R. J. MAGEE: *J. chem. Soc. (London)* **1951**, 3183; vgl. diese Z. **137**, 38 (1952/53). — ¹⁰ POLLARD, F. H.: *Sympos. Analyt. Chemistry, Birmingham* 1954; vgl. *Angew. Chem.* **66**, 685 (1954). — ¹¹ POLLARD, F. H., J. F. W. McOMIE and I. I. M. ELBEH: *J. chem. Soc. (London)* **1951**, 466;

vgl. diese Z. 136, 279 (1952). — ¹² QUENTIN, K. E.: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 99, 85 (1954); vgl. diese Z. 147, 313 (1955). — ¹³ SAKAGUCHI, T., and H. YASHUDA: J. pharmac. Soc. Japan 71, 1469 (1951); vgl. diese Z. 137, 449 (1952/53). — ¹⁴ SOMMER, G.: diese Z. 147, 241 (1955). — ¹⁵ STEEL, A. E.: Nature 173, 315 (1954); vgl. diese Z. 143, 220 (1954). — ¹⁶ SURAK, J. G., N. LEFFLER and R. MARTINOVICH: J. chem. Educat. 30, 20 (1953); vgl. diese Z. 140, 200 (1953). — ¹⁷ TAMURA, Z.: Jap. Analyst 1, 177 (1952); vgl. Chem. Abstr. 47, 4792 (1953). — ¹⁸ VAVRUCH, I., and M. HEJTMÁNEK: Chem. Listy 49, 200 (1955); vgl. Chem. Zbl. 126, 7505 (1955). — ¹⁹ WEISS, A., u. S. FALLAB: Helv. chim. Acta 37, 1253 (1954); vgl. diese Z. 145, 43 (1955).

Dr. G. Sommer, München 23, Leopoldstr. 175

Department of Chemistry, Andhra University, Waltair (India)

Volumetric Estimation of Indigo and Indigo Sulphonic Acid with Potassium Dichromate

By

G. GOPALA RAO and N. VENKATESWARA RAO

(Eingegangen am 27. März 1956)

From the earliest times, indigo has been an important dye. The sodium salt of indigo sulphonic acid is sold under the name of indigo carmine and this finds many important applications—for dyeing textiles, for colouring confectionary, for staining histological specimens and for indicating the end point in some oxidation—reduction titrations. In view of the importance of indigo and indigo carmine as articles of commerce, their determination is of considerable importance. This is particularly so in view of the fact that they are sometimes heavily adulterated. The volumetric methods suggested for the determination of indigo can be classified into three categories. According to the methods falling under the first category, an aliquot volume of the soluble indigo sulphonate solution is titrated with a standard solution of a suitable reducing agent, until the solution becomes colourless. Thus MÜLLER¹⁰ titrated a boiling solution of indigo carmine with sodium hydrosulphite solution. As the indigo white (formed by reduction) would be easily reoxidised by oxygen of the air, MÜLLER carried out the titration in an atmosphere of coal gas. BINZ and KUFFERATH³ carried out the same titration in a current of hydrogen, covering the solution of indigo sulphonate with a layer of benzene. For the estimation of indigo, they prescribe that the preliminary sulphonation to solubilise the indigo should be carried out between 50° to 65° C., as otherwise irregular results are obtained. JONES and SPAANS⁸ further modified the method by replacing the unstable sodium hydrosulphite with the stable sodium formaldehyde sulphonylate, familiarly

known as "Rongalite C". Moreover, they found that the titration could be accurately carried out even at 75° C., if a sufficient excess (50 ml. of 35 % solution) of sodium hydrogensulphite is added to the reaction mixture. If the sulphonylate solution is standardised by the same method against a sample of indigo or indigo carmine of known purity, good results are reported to be obtained. KNECHT and HIBBERT⁹ titrated a solution of indigo carmine at 95° C. with a standard solution of titanous chloride, in the presence of sufficient sodium tartrate, in an atmosphere of carbon dioxide. At the end point the blue colour of the indigo is replaced by a yellow colour.

The method proposed by THOMSON¹⁵ comes into the second category. According to THOMSON'S procedure an aliquot volume of 0.05 to 0.1 N indigo carmine solution (acidified with sulphuric acid) is passed through a cadmium reductor and the resulting indigo white is titrated with a standard ferric chloride solution, detecting the end point potentiometrically.

The third category of the volumetric methods for the estimation of indigo carmine involves titration with a suitable oxidising agent; the indigo is oxidised to isatin, the blue colour of the indigo giving place to a fine golden yellow at the end point. The method has been investigated by RAWSON¹³, BERGTHEIL and BRIGGS², BLOXAM⁴, HEINISCH⁷ and others. HEINISCH states that titration with permanganate is the best technical method for the determination of indigotin, although the results vary with the dilution at which the titration is made. The oxidation with permanganate cannot be expressed accurately by any stoichiometric equation. For the oxidation of one molecule of indigotin to isatin, two atoms of oxygen are required, but usually the reaction is complete with the taking up of 90 % of the oxygen. Hence it has been proposed to standardise the permanganate solution against a chemically pure sample of indigo or indigotin, working at the same standard dilution as proposed for the assay of the unknown sample. HEINISCH proposed a dilution of 1 part in 18,000 parts of water. THOMSON proposed adopting a dilution of 1 part in 4,000 parts of water and titrating with a 0.02 N potassium permanganate solution. As the reaction between permanganate and indigo sulphonate is not stoichiometric, ALLEN¹ suggested applying a correction factor and adherence to a prescribed procedure which is as follows: An aliquot volume of the indigo sulphonate is taken in a 500 ml. Erlenmeyer flask and diluted to give a concentration of one part in 20,000 parts, followed by the addition of the required volume of 15 N sulphuric acid to keep the acid concentration about 0.5 N. The mixture is then titrated with a 0.02 N standard potassium permanganate solution, until a clear golden yellow colour is obtained. After applying the recommended correction factor, 1 ml. of 0.02 N potassium permanganate solu-

tion will be found equal to 0.00147 gm. of indigo. NARASIMHA SASTRI and GOPALA RAO¹¹ have studied the reaction between indigo carmine and vanadic acid from an analytical standpoint. They found that, when indigo sulphonate is treated with an excess of sodium vanadate in acid solution, the indigo is oxidised to isatin slowly and that the reaction is catalysed by oxalic acid. They have found that the reaction between indigo carmine and vanadic acid can be expressed strictly by a stoichiometric equation and that the same could be employed for the accurate estimation of indigo carmine without the use of any empirical factor.

In this communication, we are presenting the results obtained by us during the study of the reaction between indigo carmine and chromic acid from the analytical aspect. Although SCHÖNBEIN¹⁴ noticed that indigo is oxidised by chromic acid as early as 1858, the reaction has not been utilised for analytical purposes.

Experimental

The indigo employed in the following experiments is drawn from a sample of synthetic indigo supplied by KAHLBAUM. About one gram of the sample is accurately weighed into a round bottomed flask and digested with 15 ml. of concentrated sulphuric acid at 90° C. for 45 minutes; the resulting sulphonic acid is cooled, diluted and then transferred completely to a 500 ml. measuring flask and made upto the mark. The solution thus prepared was standardised by the permanganometric procedure prescribed by ALLEN, as also by the vanadametric method proposed by NARASIMHA SASTRI and GOPALA RAO¹¹. Other solutions employed are made from analytical reagent quality chemicals.

Table 1

X ml. of indigo sulphonic acid solution (about 0.01 M) + 10 ml. of potassium dichromate solution (0.02403 N) + Y ml. of 9 N sulphuric acid to make up the required overall acid concentration + water to make up the volume to 30 ml.

Volume of the indigo sulphonic acid solution taken ml.	Overall acid concentration N	Time required for the completion of the reaction min.
6.0	0.7	30
	1.0	18
	2.0	8
	3.0	4
5.0	0.7	25
	1.0	10
	2.0	6
	3.0	2
4.0	0.7	14
	1.0	6
	2.0	2
	3.0	1

In the following experiments a known volume of indigo sulphonate solution is mixed with an excess of potassium dichromate, in the presence of varying concentrations of sulphuric acid. The time required for the completion of the reaction is noted in each case. The time of complete reaction is taken as that required for the complete disappearance of the blue colour. The results are recorded in Table 1 (p. 349).

It will be seen from Table 1 that as the concentration of the acid is increased, the speed of the reaction between dichromate and indigo sulphonic acid increases. In the next series of experiments, the unreacted potassium dichromate is estimated by titration with standard ferrous ammonium sulphate solution employing diphenylbenzidine as the indicator in the presence of phosphoric acid. Alternatively, the excess of dichromate is determined by keeping the solution with an excess of potassium iodide for five minutes in the dark and titrating the liberated iodine with a standard solution of sodium thiosulphate. Having in this way determined the excess of unreacted dichromate, and subtracting the same from the amount of dichromate originally taken, one can obtain the amount of dichromate reacted with the indigo sulphonic acid taken; assuming that the reaction takes place according to the following equation:

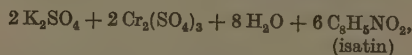
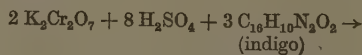


Table 2

X ml. of indigo sulphonic acid solution (about 0.01 M) + 10 ml. of potassium dichromate (0.02403 N) + Y ml. of 9 N sulphuric acid to make up the required overall concentration + water to make up the volume to 30 ml.

Amount of indigo taken gm.	Overall sulphuric acid concentration N	Amount of indigo found by the dichromate method gm.	Factor (F)
0.011200	0.7	0.01124	1.000
	1.0	0.01090	1.025
	2.0	0.01070	1.040
	3.0	0.01063	1.050
0.009330	0.7	0.00933	1.000
	1.0	0.009088	1.025
	2.0	0.008913	1.040
	3.0	0.008851	1.050
0.007464	0.7	0.007470	1.000
	1.0	0.007270	1.027
	2.0	0.007129	1.047
	3.0	0.007067	1.056

one can calculate the amount of indigo present. A large number of determinations of indigo have been carried out in this way with potassium dichromate, at varying sulphuric acid concentrations, and the results are recorded in Table 2.

F is the factor by which the indigo value obtained by the dichrometric method is to be multiplied to get the true value. We have studied the indigo-chromic acid reaction in the absence of oxygen (under an atmosphere of carbon dioxide) at varying acid concentrations. Even under such conditions it was found that the amount of chromic acid consumed is less than the theoretical, so that the difficulty is not due to oxygen interference.

It is evident from the results in Table 2, that the dichrometric method gives correct values in accordance with the stoichiometric equation only when the acid concentration is kept at 0.7 N. When the acid concentration is increased above this value, the amount of indigo determined by the dichromate method is less than the true value. The deficiency increases with increasing acid concentration. A large number of experiments were made to see, if at the higher acid concentrations, there is any proportionality between the different amounts of indigo determined, although the reaction may not be strictly stoichiometric. It was observed that if the concentration of sulphuric acid is kept constant, in a series of experiments where different amounts of indigo were taken, the indigo values determined show a good proportionality within themselves, although they slightly deviate from the amounts actually taken. Moreover, the correct result for indigo can also be got by a factor F , which has got a constant average value for a given sulphuric acid concentration. Our experiments have shown that this factor, F , changes with the change in the concentration of the acid.

As we have found that the reaction is strictly stoichiometric at a concentration of 0.7 N sulphuric acid, we have carried out many determinations of indigo at this acid concentration and some typical results are given in Table 3.

Table 3

X ml. of indigo sulphonic acid solution (about 0.01 M) + 10 ml. of potassium dichromate solution (0.02755 N) + 10 ml. of 2 N sulphuric acid + water to make up the volume to 30 ml.

Amount of indigo taken gm.	Amount of indigo found by the dichromate method gm.
0.01479	0.01480
0.01294	0.01294
0.01108	0.01110
0.00925	0.00925
0.00736	0.00735

The results presented in Table 3 (p. 351) show that the dichromate method gives accurate values provided the experimental conditions are strictly adhered to those indicated above.

Influence of Oxalic Acid on the Reaction between Indigo Sulphonate and Chromic Acid. SCHÖNBEIN was the first to notice that oxalic acid accelerates the reaction between chromic acid and indigo. PRUD'HOMME¹² observed that the velocity of the oxidation of chromic acid is proportional to the concentration of oxalic acid when the chromic acid concentration is kept constant. GEORGIEVICS and SPRINGER⁶ also studied this reaction and stated that the reaction is accelerated by oxalic acid very much and to a lesser degree by citric, tartaric, salicylic, benzoic, succinic, acetic or formic acids as also by methyl and ethyl alcohols. They believed the action of these substances to be catalytic, because the acceleration has been found to be proportional to the quantity of the substance present. WESTHEIMER¹⁶ believes that the effect of oxalic acid on the reaction between indigo and chromic acid constitutes a genuine case of induced oxidation with oxalic acid functioning as the inductor. FEIGL⁵ also stated that the indigo-oxalic acid-chromic acid reaction is a specific instance of chemical induction. We have also carried out experiments to see if the action of oxalic acid is truly catalytic so that the catalysed reaction can be employed for analytical purposes. We have found that although oxalic acid increases the speed of the reaction between indigo and chromic acid, its action is not truly catalytic, because the oxalic acid simultaneously reacts with the chromic acid. We have also observed that in the absence of indigo carmine, the speed of oxidation of oxalic acid by chromic acid is very negligible. Thus it appears that the indigo sulphonate also accelerates the speed of oxidation of oxalic acid by chromic acid. This case cannot be regarded as an instance of induced reaction, where oxalic acid functions as an inductor, because even in the absence of oxalic acid the reaction between indigo and chromic acid takes place at a measurable speed. On the otherhand, we may state that the indigo sulphonate is the inductor and that oxalic acid is the acceptor with chromic acid functioning as the actor. The primary reaction between the indigo and chromic acid induces the negligibly slow reaction between oxalic acid and chromic acid.

From the above discussion, it is evident that the accelerating effect of oxalic acid cannot be utilised for analytical purposes.

Summary

The reaction between indigo sulphonate and chromic acid has been studied under various conditions, with a view to its analytical application. When indigo sulphonate is treated with an excess of chromic acid in 0.7 N sulphuric acid, indigo is quantitatively oxidised to isatin. The

excess of unreacted chromic acid can be determined iodimetrically or by titration with standard ferrous ammonium sulphate solution. At higher acid concentration, the reaction is not quantitative, the chromic acid consumed being somewhat less than the theoretical.

References

- ¹ ALLEN's Commercial Organic Analysis, 5th Ed., p. 631, Vol. VI, London (1933). — ² BERGTHEIL, C., and R. V. BRIGGS: J. Soc. chem. Ind., **26**, 182 (1907). — ³ BINZ, A. and A. KUFFERATH: Färber-Ztg. **14**, 225 (1903); cf. Chem. Zbl. **1903**, II, 398. — ⁴ BLOKAM, W. P.: J. Soc. chem. Ind., **25**, 735 (1906); **26**, 1106 (1907). — ⁵ FEIGL, F.: Chemistry of Specific, Selective and Sensitive Reactions, p. 133. New York 1949. — ⁶ GEORGIEVICS, G. v. and L. SPRINGER: Mh. Chem., **21**, 413 (1900). — ⁷ HEINTSCH, W.: Färber-Ztg., **29**, 183, 194 (1918); cf. J. Soc. chem. Ind., **37**, 648 (1918); cf. Z. analyt. Chem. **77**, 308 (1929). — ⁸ JONES, S. M., and W. SPAANS: Ind. Engng. Chem., **8**, 1001 (1916); cf. Z. analyt. Chem. **59**, 99 (1920). — ⁹ KNECHT, E. and E. HIBBERT: New Reduction Methods in Volumetric Analysis, p. 101, (1928). — ¹⁰ MÜLLER, E.: American Chemist **5**, 128. — ¹¹ NARASIMHA SASTRI, M., and G. GOPALA RAO: Current Sci. **21**, 189 (1952). — ¹² PRUD'HOMME, M.: Bull. Soc. chim. (3) **29**, 306 (1903). — ¹³ RAWSON, C.: J. Soc. Dyers Colourists, **41**, 74, 201 (1925). — ¹⁴ SCHÖNBEIN, C. F.: J. prakt. Chem. **75**, 108 (1858). — ¹⁵ THOMSON, W.: J. Soc. Dyers Colourists **37**, 166 (1921). — ¹⁶ WESTHEIMER, F. H.: Chem. Reviews **45**, 422 (1940).

Prof. G. GOPALA RAO, D. Sc., Head of the Department of Chemistry,
Andhra University, Waltair (India)

Department of Chemistry, Andhra University, Waltair (India)

Cerimetric Estimation of Indigo Carmine

By

G. GOPALA RAO, N. VENKATESWARA RAO and I. SUBRAMANYAM

(Eingegangen am 29. Februar 1956)

Indigo and indigo carmine are important articles of commerce. They are used for dyeing textiles and for colouring confectionary. In the laboratory, indigo carmine is used for staining histological specimens or as an oxidation-reduction indicator in volumetric analysis. Its use as an indicator is based on two different reactions. Firstly, it can be reduced by a suitable reducing agent to the leuco dye which may be reoxidised to the blue coloured form by a suitable oxidant. SCHLUTTIG¹⁰ carried out the direct titration of stannous chloride in 5 N hydrochloric acid with ferric chloride using indigo carmine as indicator. The colour change of the indicator is from a sap yellow to the deep indigo blue and is very

sharp. The titration should be carried out in an atmosphere of carbon dioxide to prevent the interference of oxygen of the air. A 0.2% indigo carmine solution is used as an indicator in titrations with potassium bromate or a very dilute potassium permanganate solution. One drop of the solution per 100 ml. gives a distinctly blue coloured liquid, which is decolourised by 0.1 ml. of 0.01 N potassium permanganate. This indicator action is due to the oxidation of the blue indigo to the yellow isatin sulphonic acid. This reaction is not reversible. The speed of decolourisation of the indigo carmine with potassium bromate is somewhat slow at the room temperature but quite rapid at 40°—50° C. Hence, KOLTHOFF⁷ recommends the bromate titration to be carried out in hydrochloric acid medium of at least 0.5 N and to heat the mixture towards the end to 40°—50° C. It is a disadvantage that the indicator reaction does not proceed reversibly. During the titration, a little indicator may be oxidised by the reagent, so that it may be necessary to add some more of the indicator solution towards the end. A correction also becomes necessary. FERRAMOLA⁴ employed indigo carmine as an indicator in cerimetric titrations.

The oxidimetric methods for the estimation of indigo carmine have so far utilised only potassium permanganate and sodium vanadate. The use of permanganate for the titration of indigo carmine has been investigated by RAWSON⁹, GROSSMANN⁵, BERGTHEIL and BRIGGS², BLOXAM³, HEINISCH⁶ and THOMSON¹¹, among others. HEINISCH (1918) stated that the permanganate titration is the best technical method available upto the time, although the results vary with the dilution at which the titration is made. The oxidation of indigo carmine by permanganate is usually complete with the taking up of 90% of the oxygen required by the stoichiometric equation. Hence, HEINISCH proposed standardising the permanganate solution against a chemically pure sample of indigo, working under the same dilution as proposed for the assay of the unknown sample. He employed a dilution of 1 part of indigo in 18,000 parts of water. THOMSON proposed adopting a dilution of 1 part in 4,000 parts of water. ALLEN¹ suggested titration under a prescribed procedure and applying a correction factor. NARASIMHA SASTRI and GOPALA RAO⁸ have employed sodium vanadate as a reagent for the estimation of indigo carmine. The indigo carmine reacts only slowly with an excess of sodium vanadate, at the room temperature, in acid solution. But the reaction has been found to be strongly accelerated by oxalic acid. The reaction has been found to proceed accurately according to the stoichiometric equation, expressing the oxidation of indigo to isatin. This reaction was employed by them for the estimation of indigo carmine. We have now investigated the possibility of using ceric sulphate for the estimation of indigo carmine.

Experimental

Materials employed:

Indigo. Kahlbaum synthetic indigo has been taken as the starting material. About one gram of the sample is weighed out accurately into a 100 ml. round bottom flask and then heated with 15 ml. of concentrated sulphuric acid on a water bath at 90° C, for 45 minutes. The mixture is then cooled and made up to 500 ml.

Ceric Sulphate: The ceric sulphate solution was prepared from B. P. cerous oxalate, which is not free from other rare earths.

All other chemicals employed are of analytical reagent grade.

The indigo carmine solution, prepared as described above, is standardised according to the vanadimetric method of NARASIMHA SASTRI and GOPALA RAO⁸. The indigo sulphonate solution is mixed with an excess of standard sodium vanadate solution, acidified with 10 ml. of 2 N sulphuric acid and then treated with 1 ml. of 1 N oxalic acid solution and the mixture then diluted to 30 ml. After the disappearance of the blue-green colour, the excess of unreacted vanadate is titrated with a standard solution of ferrous ammonium sulphate with diphenylbenzidine as indicator.

Cerimetric Titration of Indigo Carmine

Preliminary experiments have shown that the reaction between indigo carmine and ceric sulphate is very fast. Hence, the possibility of carrying out a direct titration of the indigo carmine with ceric sulphate has been investigated. The end-point of the titration is taken as that at which the green colour of the solution changes over to a golden yellow, the colour of isatin sulphonic acid. The experiments show that the colour change at the end-point is quite sharp making a direct titration feasible. The results are recorded in Table 1.

Table 1

X ml. of indigo carmine solution + 3.0 ml. of 9 N sulphuric acid + water to make up the volume to 50 ml.

Strength of ceric sulphate = 0.0198 N

Amount of indigo taken in grams	Amount of indigo found by ceric sulphate method in grams	Correction factor
0.01649	0.01416	1.165
0.01466	0.01261	1.163
0.01283	0.01098	1.168
0.01100	0.00940	1.170
0.00917	0.00789	1.161

From the results in Table 1 it is evident that although a direct titration is quite possible, the amount of ceric sulphate consumed in any titration is less than what should correspond to the stoichiometric equation. However, the results show that it is possible to calculate the true values by using a factor.

Influence of Acid Concentration

In the following titrations, the overall sulphuric acid concentration of the titration mixture is varied. The results in Table 2 indicate that this variation does not affect the correction factor.

Table 2

X ml. of indigo carmine solution + Y ml. of 9 N sulphuric acid to make up the required overall acid concentration + water to make upto 50 ml.

Amount of indigo taken in grams	Overall sulphuric acid concentration N	Amount of indigo found by ceric sulphate method in grams	Correction factor
0.01466	0.5	0.01261	1.163
	1.0	0.01264	1.160
	1.5	0.01261	1.163
	2.0	0.01266	1.158
0.01100	0.5	0.00940	1.170
	1.0	0.00943	1.166
	1.5	0.00942	1.168
	2.0	0.00940	1.170

The correction factor calculated as the average of a large number of titrations may be given as 1.165.

Reverse titrations. Experiments have also been carried out taking the standard ceric sulphate solution in the titration flask and titrating with the solution of indigo carmine run down from the burette to the first appearance of a greenish blue colour, which is taken as the end-point. The results are recorded in Table 3.

Table 3

X ml. of ceric sulphate solution + 3.0 ml. of 9 N sulphuric acid + water to make up the volume to 50 ml.

Amount of indigo taken in grams	Amount of indigo found by ceric sulphate method in grams	Correction factor
0.00515	0.00443	1.163
0.00749	0.00641	1.169
0.01064	0.00910	1.165
0.01680	0.01445	1.162
0.02140	0.01839	1.164
0.02563	0.02200	1.165

The results in Table 3 show that the stoichiometry of the reaction is not improved by reversing the titration procedure. The correction factor also retains the same average value as in the direct titration of indigo carmine with ceric sulphate.

In all the experiments reported above, it will be seen that the amount of indigo obtained by the ceric sulphate method must be multiplied by

the factor 1.165 in order to obtain the true value. It has been thought that the lower value obtained in the cerimetric procedure may be due to the interference of oxygen of the air by an induced mechanism. The primary reaction between ceric sulphate and indigo may be inducing the secondary reaction between indigo and oxygen of the air. In order to elucidate this point, experiments have now been designed with exclusion of air by conducting the experiments in an atmosphere of carbon dioxide. The results are recorded in Table 4.

Table 4

Titration of Indigo Carmine with Ceric Sulphate in Carbon Dioxide Atmosphere
X ml. of indigo carmine solution + 6.0 ml. of 9 N sulphuric acid + water to make up the volume to 50 ml.

Amount of indigo taken in grams	Amount of indigo found by ceric sulphate method in grams	Correction factor
0.01649	0.01416	1.165
0.01466	0.01261	1.163
0.01283	0.01098	1.168
0.01100	0.00940	1.170
0.00917	0.00789	1.161

The results recorded in Table 4 show that even with the exclusion of air, the reaction does not follow the stoichiometric course. The value of the correction factor to arrive at the true value of the indigo taken is about the same as found in titrations carried out in the presence of air. Hence, it may be concluded that the nonstoichiometry of the reaction is not due to the interference of oxygen of the air.

Influence of Varying the Dilution of Indigo Carmine Solution

In the experiments described in the previous section, the indigo carmine was taken at an overall concentration of 0.02 N before titration

Table 5

Amount of indigo taken in grams	Overall sulphuric acid concentration N	Amount of indigo found by ceric sulphate method in grams	Correction factor
0.001424	0.5	0.001172	1.215
0.001900	0.5	0.001562	1.216
0.002374	0.5	0.001954	1.215
0.002849	0.5	0.002360	1.208
0.001424	1.0	0.001171	1.215
0.001900	1.0	0.001562	1.216
0.002374	1.0	0.001954	1.215
0.002849	1.0	0.002344	1.215
0.001424	2.0	0.001172	1.215
0.001900	2.0	0.001562	1.216
0.002374	2.0	0.001954	1.218
0.002849	2.0	0.002344	1.215

with ceric sulphate. Titrations have now been carried out at an overall concentration of 0.005 N. The results are tabulated in Table 5 (p. 357).

From the results in Table 5 it is evident that the correction factor increases slightly with an increase in the dilution of the indigo carmine solution. The value of the correction factor does not alter by altering the concentration of the sulphuric acid.

Summary

1. The possibility of determining indigo carmine by direct titration with a standard solution of ceric sulphate has been investigated.

2. It has been found that although a rapid direct titration is possible, the amount of ceric sulphate consumed is less than the stoichiometric amount required by the equation representing the oxidation of indigo carmine to isatin sulphonate. However, it has been observed that the amounts of indigo carmine as determined by the ceric sulphate titration are proportionate in themselves, provided all the titrations are carried out at the same dilution. The true values can also be obtained by the use of a correction factor. At a dilution of 0.02 N indigo carmine, the correction factor has an average value of 1.165. This does not vary with the concentration of sulphuric acid at which the titration is made, but shows a slight variation with the concentration of the indigo carmine solution.

3. Reverse titration of ceric sulphate with indigo carmine is also possible, but has been found to be subject to the same limitations.

References

- ¹ ALLEN's Commercial Organic Analysis, 5th Ed., Vol. VI. p. 631 London (1933). — ² BERGTHEIL, C., and R. V. BRIGGS: *J. Soc. chem. Ind.* **26**, 182 (1907). — ³ BLOXAM, W. P.: *J. Soc. chem. Ind.* **25**, 735 (1906); **26**, 1106 (1907). — ⁴ FERRAMOLA, R.: *An. Asoc. quím. argent.* **26**, 96 (1932). — ⁵ GROSSMANN, J.: *J. Soc. chem. Ind.* **24**, 308 (1905). — ⁶ HEINISCH, W.: *Färber-Ztg.* **29**, 183, 194 (1918); cf. *J. Soc. chem. Ind.* **37**, 648 (1918); cf. *Z. analyt. Chem.* **77**, 308 (1929). — ⁷ KOLTHOFF, I. M.: *Volumetric Analysis*, Vol. II, p. 273 (1929). — ⁸ NARASIMHA SASTRI, M., and GOPALA RAO, G.: *Current Sci.* **21**, 189 (1952). — ⁹ RAWSON, C.: *J. Soc. Dyers Colourists.* **41**, 74, 201 (1925). — ¹⁰ SCHLUTTIG, W.: *Z. analyt. Chem.* **70**, 55 (1927). — ¹¹ THOMSON, W.: *J. Soc. Dyers Colourists.* **37**, 166 (1921).

Prof. G. GOPALA RAO, D. Sc., Head of the Department of Chemistry,
Andhra University, Waltair (India)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Röntgenstrahlenemissionsspektrographie. In einer Untersuchung über die *Genauigkeit der Röntgenstrahlenemissionsspektrographie* zeigen H. A. LIEBHAFSKY, H. G. PFEIFFER und P. D. ZEMANY¹, daß die Röntgenstrahlenemission genau wie die Radioaktivität den Gesetzen der Wahrscheinlichkeit unterliegt. Hierbei diskutieren sie, wie weit sich die Ergebnisse einer ideal justierten Apparatur durch eine GAUSS'sche Verteilungskurve wiedergeben lassen. Bei der experimentellen Prüfung wird eine Wolframprobe im Spektrographen untersucht. Die Versuchsreihen ergeben eine ausgezeichnete Annäherung an eine GAUSS-Verteilung. Systematische Abweichungen hiervon lassen sich auf Versuchsfehler zurückführen, was durch besondere Parallelversuche bestätigt wird. Die Verf. sind in der Lage, für ihre Apparatur eine Standardabweichung vorauszusagen, die mit den Beobachtungen gut übereinstimmt.

J. VAN CALKER

Flammenphotometrie. Nach einer eingehenden Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen *Störungen bei der Flammenphotometrie* der Alkalien und Erdalkalien berichtet J. SPECTOR² über Experimente, die die zahlenmäßige Erfassung dieser Störungen bei Verwendung eines LANGE-Flammenphotometers zum Ziel hatten. In verschiedenen Diagrammen sind die gegenseitigen Beeinflussungen der Elemente Calcium, Natrium und Kalium dargestellt. Leider wurde bei den Versuchen die Konzentration des gestörten Elementes nicht variiert, so daß ein wesentlicher Parameter in den Untersuchungen fehlt. In fast allen Fällen wurde gefunden, daß die Störung durch ein Element konstant wird, wenn das betreffende Element in genügendem Überschuß vorliegt. Die Konzentrationen der Elemente liegen bei diesen Untersuchungen in der Größenordnung, wie sie praktisch bei der Analyse von Böden und Pflanzen vorkommen. Außerdem findet der Autor, daß die Störungen durch Calcium auf Natrium und Kalium durch die Gegenwart von Aluminium reduziert werden können.

Zur Vermeidung von kurzzeitigen Schwankungen in der Anzeige am Beckman-Flammenphotometer benutzten bereits JOHNSON und WISCHMEIER³ eine fest installierte Kapazität von 4000 μF parallel zum Meßinstrument. In Anlehnung an diesen Vorschlag benutzt C. F. ROTHE⁴ zwei Kondensatoren von 500 bzw. 3500 μF , so daß durch einen 3-Stufenschalter die Dämpfung wahlweise ausgeschaltet oder durch 500 oder 4000 μF vorgenommen werden kann. Diese Maßnahme bewährt sich überall dort, wo durch eine zu große Dämpfung durch eine fest eingebaute Kapazität die Ablesung verzögert würde. Außerdem schlägt er zur bequemeren Handhabung des Gerätes die Benutzung von Helipot-Potentiometern zur Empfindlichkeits- und Dunkelstromkontrolle sowie einer Ableselupe am Anzeigegerät vor.

F. ROSENDAHL

¹ Analyt. Chemistry 27, 1257—1258 (1955). General Electric Co., Schenectady, N. Y. (USA).

² Analyt. Chemistry 27, 1452—1455 (1955). Imper. College Tropic. Agricult., Trinidad (Brit. Westindien).

³ BECKMAN, Application Bull. DU-24-A.

⁴ Analyt. Chemistry 27, 1507 (1955). Univ. Columbus, Ohio (USA).

Differentialmessungen des Reflexionsvermögens. C. A. LERMOND und L. B. ROGERS¹ berichten über *differentielle spektralphotometrische Reflexionsmessungen an gefärbten Stoffen, Garnen und Pulvern*, die sich schlecht in Lösung bringen lassen oder sich beim Lösen verändern. Die Messungen erlauben die Bestimmung von kleinen Abweichungen vor allem im Gebiet geringer Reflexion. Die Verf. arbeiten mit dem Beckman DU-Spektralphotometer unter Verwendung des Zusatzgerätes für Reflexionsmessungen und eines Beckman Photomultipliers. Bei Messungen an gefärbten Stoffen wurden 5 Schichten übereinander auf eine weiße Karte gelegt, während Garne auf eine Glasplatte so aufgewickelt wurden, daß die drei Schichten untereinander einen Winkel von 90° bildeten. Die Proben wurden gegen Magnesiumcarbonat oder eine andere, willkürlich als Standard gewählte, gefärbte Substanz gemessen. Für die Untersuchungen der mit Diagen Blue MSG, Ponsol Golden Orange 4 R Double Paste, sowie Acetamingelb CG gefärbten Stoffe werden in Abb. die Ergebnisse mitgeteilt. Man erkennt daraus, daß sich vor allem geringe absolute Unterschiede in der Größe der Reflexion durch differentielle Messungen besser erkennen lassen. Die Meßfehler sind in ihrer Größe sehr unterschiedlich. Die Werte sollen im allgemeinen innerhalb von $\pm 0,2\%$ reproduzierbar sein, bei Probenwechsel und Untersuchung an anderer Stelle des gleichen Stoffes treten Abweichungen von $\pm 2-3\%$ auf, als deren Ursache von den Verfassern der Druckprozeß selbst genannt wird. — Bei Pulvern werden Ergebnisse von Messungen an verschiedenen Mischungen von Eisen(III)-oxyd und Bariumsulfat mitgeteilt. Die Genauigkeit liegt hier bei $\pm 2\%$. Mischungen, die nur 5% Bariumsulfat enthielten, konnten bei 400 μ nicht von reinem Eisen (III)-oxyd unterschieden werden. Ebenso wird der Einfluß auf die Reflexion von Kupfer(II)-oxyd im Gemisch mit Bariumsulfat (gegen reines Bariumsulfat), mit Eisen(III)-oxyd — Bariumsulfat und Bariumchromat — Bariumsulfat mitgeteilt. An gefärbten Garnen wurde der Einfluß der relativen Lage des Garnes zwischen Probe und Standard, des Pressens unmittelbar vor der Messung und verschiedener Garnunterlagen näher untersucht. Die maximalen Unterschiede in den Messungen betrugen 2% (relativ); sie beruhen wahrscheinlich auf der Heterogenität des Fadens. Messungen mit schwarzen, weißen und durchsichtigen Unterlagen ergaben, daß die Differenzen kleiner als 2% sind, die Abweichungen sich jedoch nicht gleichmäßig über alle Wellenlängen verteilen. Unter 520 μ liefert die weiße Unterlage einen geringen Beitrag zur Reflexion. — Je nach dem Zweck, dem die Messungen dienen sollen, können durch geeignete Maßstabswahl gut auswertbare Kurvenzüge in Abhängigkeit von der Farbstoffkonzentration erhalten werden. Zur Darstellung werden die Reflexion der Probe des ungefärbten Materials und der Probe mit der höchsten Farbstoffkonzentration herangezogen. Die Verfasser empfehlen das Verfahren zur qualitativen und quantitativen Analyse für den sichtbaren und nahen ultraroten Teil des Spektrums.

H. SPECKER

Indirekte Spektralphotometrie. In einer eingehenden theoretischen Diskussion der *Fehlermöglichkeiten bei der indirekten Spektralphotometrie*, wie sie z. B. zur Bestimmung von Fluoriden fast ausschließlich angewendet wird, behandelt J. J. LOTHE² die Fehlergröße als Funktion der Konzentration bzw. Extinktion bzw. Durchlässigkeit der Bezugslösungen, der Extinktion bzw. Durchlässigkeit der Analysenlösungen, der Differenz beider Größen und der Stabilitätskonstanten der beteiligten Komplexe. Der Einfluß chemischer Fehler wird nicht berücksichtigt. In der Regel gilt folgendes: Maximale Genauigkeit erreicht man durch Differenzmessung, wobei man an Stelle des reinen Lösungsmittels Standardlösungen benutzt,

¹ Analyt. Chemistry 27, 340—346 (1955). Inst. Technol. Cambridge, Mass. (USA).

² Analyt. Chemistry 27, 1546—1551 (1955). Central Inst. Indust. Res., Blindern, Oslo (Norwegen).

deren Extinktion bzw. Durchlässigkeit derjenigen der Analysenlösung möglichst gleich sein soll. Für die Berechnung der Eichkurven und der Fehlerkurven werden Näherungsfunktionen angegeben, deren Konstanten im Einzelfall empirisch zu ermitteln sind. Weiterhin behandelt Verf. den sogenannten graphischen Fehler, der beim Umwandeln der Extinktions- bzw. Durchlässigkeitswerte in Konzentrationswerte mit Hilfe der Eichkurve auftritt. Er kann unter Umständen wesentlich größer als der photometrische Fehler werden. Über die Einzelheiten der mathematischen Behandlung unterrichtet man sich an Hand des Originals.

H. SPECKER

Über die Differentialcolorimetrie in salzhaltigem Medium. Die in äthanolischer Lösung gemessenen UV-Absorptionsspektren strukturell nahe verwandter Substanzen werden, wie C. MENTZER und J. JOUANNEAU¹ am Beispiel einiger Flavonderivate zeigen konnten, in Gegenwart hoher Elektrolytkonzentrationen (Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Ammoniumchlorid, Natriumsulfat, Ammoniumsulfat, Magnesiumsulfat) so stark verändert, daß die betreffenden Substanzen auch dann voneinander unterschieden und nebeneinander bestimmt werden können, wenn andere Methoden, z. B. die Papierchromatographie, keine Differenzierung mehr erlauben. Die Absorptionsspektren von *Taxifolin* (= 2,3-Dihydroquercetin) und von [3,4-Dioxybenzyl]-2-[4,6-Dioxycumaranon] zeigen übereinstimmende Absorptionsmaxima bei 288 bzw. 287 m μ , die auch in Gegenwart von Ammoniumchlorid und -sulfat oder von Natriumsulfat ihre Lage beibehalten. Natriumchlorid bewirkt eine Verschiebung nach 320 bzw. 310 m μ , Magnesiumsulfat eine solche nach 317 bzw. 310 m μ . In gesättigter Kaliumchloridlösung treten zwei Absorptionsmaxima bei 288 und 320 m μ auf. Ähnlich verhalten sich *Fustin* (2,3-Dihydro-7,3',4'-trioxyflavon) und *Dihydorobinetin* (2,3-Dihydro-7,3',4',5'-tetraoxyflavon). In den Spektren beider Substanzen bewirken Natrium- und Magnesiumsulfat sowie Kalium- und Natriumchlorid eine Verdoppelung der UV-Absorptionsmaxima, während Ammoniumchlorid wirkungslos bleibt. Besonders charakteristisch unterscheiden sich die mit Eisen(III)-chlorid erhaltenen Verbindungen in ihrem spektralen Verhalten gegenüber Elektrolyten. Das *Fustin*-Addukt gibt in Gegenwart von Ammoniumnitrat eine intensive Absorptionsbande bei 410 m μ , während das *Robinetin*-Addukt im gleichen Bereich praktisch nicht absorbiert. — Eine umfassende Deutung dieser Erscheinungen steht noch aus, jedoch können sie nach Ansicht der Verf. zumindest teilweise auf die Bildung von Koordinationsverbindungen zurückgeführt werden. H. SPECKER

Bei der KARL-FISCHER-Titration läßt sich nach F. L. J. VAN LAMOEN und H. BORSTEN² vorteilhaft eine potentiometrische Endpunkteanzeige verwenden, wenn die Titration nach A. JOHANSSON³ in

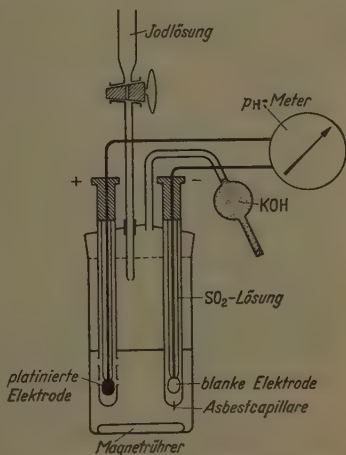


Abb. 1. Meßzelle nach van LAMOEN und BORSTEN

¹ Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **37**, 887—895 (1955). Fac. Sciences, Lyon (Frankr.).

² Analyt. Chemistry **27**, 1638—1639 (1955). Vezelinst. T.N.O., Delft (Holland).

³ Svensk Papperstidn. **50**, 11 B, 124 (1947); vgl. diese Z. **132**, 434 (1951).

einer Lösung von 100 g trockenem Schwefeldioxyd in 500 g wasserfreiem Methanol und 500 g wasserfreiem Pyridin mit einer Lösung von 50 g Jod in 1000 ml wasserfreiem Methanol erfolgt und als Indicatorelektrode eine platierte, als Gegenelektrode eine blanke Platinelektrode verwendet wird, die sich in Schwefeldioxydlösung befindet, die aber durch einen capillaren Asbeststopfen entsprechend der Abb. 1 (S. 361) getrennt untergebracht ist. Als Meßinstrument dient ein pH -Meter. Es treten Potentialsprünge von etwa 150 mV auf, die sehr steil sind. Bei Abwarten einer konstanten Potentialeinstellung nach jeder Zugabe (1 min) können 30–100 mg Wasser in 30–50 ml mit einem Fehler von nicht mehr als 0,8% bestimmt werden.

K. CRUSE

Coulometrische Titrationen. Nach R. SCHREIBER und W. D. COOKE¹ sind coulometrische Titrationen auch auf *kleinste Lösungs- und Substanzmengen* anwendbar, wenn ein Tropfen der Analyselösung entsprechend Abb. 2a auf einer siliconisierten Glasplatte (3) aufgebracht mit Mikroelektroden (1) und (2) elektrolysiert und mit einem vibrierenden Draht gerührt wird. Da nur sehr geringe Stromstärken benötigt werden, reicht die Verwendung einer 45 V-Batterie mit passendem Wider-

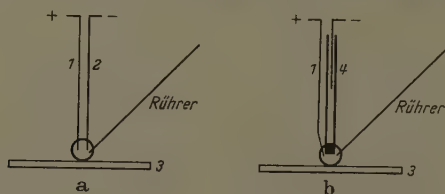


Abb. 2. Titrationsvorrichtung nach SCHREIBER und COOKE

stand völlig aus. Der Elektrolysestrom (bis zu 100 μA) wird am Spannungsabfall über einen Meßwiderstand bestimmt. Zur *Titration von Arsenit* (0,01–0,0002 m) mit elektrolytisch erzeugtem Jod werden z. B. 30 μl auf pH 6,4 abgepufferter Jodidlösung mit etwas Stärke versetzt als Grundelektrolyt verwendet. 10 μl der Analysenlösung werden dann in den Tropfen zupipettiert und zwischen den Platinelektroden bis zur Blaufärbung elektrolysiert. — Die Ergebnisse sind noch genauer, es sind vor allem auch Mengen bis hinab zu 0,15 μg auf $\pm 5\%$ genau analysierbar, wenn der Endpunkt potentiometrisch bestimmt wird, wobei in Abänderung des früher beschriebenen Verfahrens² zunächst bis zu einem bestimmten Potential vortitriert, dann die Probe zugesetzt und schließlich wieder bis zu dem gewählten Potential titriert wird. An Stelle der Glasplatte dient dann eine Platinfolie entsprechend Abb. 2b gleichzeitig als Generatoranode, ein Platindraht und eine Kalomel-Capillarelektrode (4) als Indicatorsystem. Anzeigeinstrument ist ein pH -Meter. — *Salzsäure* wird in 1%iger KCl-Lösung an Platin gegen Silber mit elektrolytisch erzeugten Hydroxyl-Ionen und Methylrot als Indicator titriert, Natronlauge ähnlich, aber mit Filterpapier getrenntem capillarem Kathodenraum. Titrationen mit Indicatoren gelingen allerdings nur auf einige Prozent genau.

Zur Coulometrie mit amperometrischer Endpunktsanzeige hat H. L. RICHTER³ ein Gerät gebaut, mit dem eine Analyse nach Einschalten des Elektrolysestroms

¹ Analyt. Chemistry **27**, 1475–1476 (1955). Cornell Univ., Ithaca, N.Y.(USA).

² COOKE, W. D., C. N. REILLEY und N. H. FURMAN: Analyt. Chemistry **23**, 1662 (1951); vgl. diese Z. **137**, 370 (1952/53).

³ Analyt. Chemistry **27**, 1526–1531 (1955). Inst. Technol., Pasadena, Calif.

völlig automatisch abläuft. Zur Abschaltung des Elektrolysestroms wird die Anzeige einer Hilfskette aus zwei Platinelektroden verwendet, die Stromdauer wird gleichzeitig automatisch gemessen. Das Gerät ist so ausgelegt, daß nicht nur Titrationsen ausgeführt werden, bei denen die amperometrische Endpunktsanzeige durch einen starken Stromanstieg gekennzeichnet ist, der zur Steuerung verwendet wird (Fall A). Durch Einbau zweier zusätzlicher elektronischer Relais wird auch bei Titrationskurven in V-Form (Fall C) oder selbst dann, wenn kurz vor dem Äquivalenzpunkt eine kurzzeitige Umkehr des Diffusionsstroms beobachtet wird (Fall B), automatische Umpolung und Kompensation erreicht, so daß keine verfrühte Abschaltung erfolgen kann. — Das Gerät ist in der Konstruktion und in seinen Funktionen ausführlich beschrieben. An Probetitrationen von *Antimon*(III) mit Brom (Fall A) und von Jodid mit Brom (Fall C) werden mittlere Fehler von nur 0,2% beobachtet.

K. CRUSE

Elektrophorese. L. F. J. PARKER¹ hat eine ausgezeichnete Übersicht über die *Zonenelektrophorese auf Filtrierpapier* an Hand von 240 Literaturzitaten zusammengestellt. Historische Entwicklung der Methode, Apparatetypen, Abhängigkeiten der Beweglichkeiten vom p_H -Wert, von der Ionenkonzentration und von der Temperatur der verwendeten Pufferlösungen und vom Filtrierpapier selbst, auch die Elektrophorese auf anderen Trägern werden systematisch behandelt. Der Überblick enthält ferner Angaben über die Anwendung der Elektrophorese zur Untersuchung von Proteinen, von kleinen organischen Molekeln und von anorganischen Ionen, sowie über die Lokalisierung, Identifizierung und quantitative Auswertung von Zonen.

Eine umfassende Übersicht über die *Zonenelektrophorese* hat auch R. MUNIER² gegeben. Der Umfang der Übersicht mit über 270 Literaturzitaten ist so groß, daß hier lediglich die hauptsächlichen Gesichtspunkte angeführt werden können, die eingehender behandelt werden. In einem 1. Teil wird vornehmlich die *Papierelektrophorese*, auch die *Elektrophorese an anderen inerten Massen* behandelt, auf die wesentlichen Voraussetzungen zur Anwendung dieser Methoden und auf ihre Theorie (MACHEBOEUF, REBEYROTTE und DUBERT) eingegangen. Noch eingehender wird im 2. Teil über die ein- und zweidimensionale *Papier-Mikroelektrophorese* unter den gleichen Gesichtspunkten referiert und gleichzeitig auch über Geräte und Anwendungen ausführlich berichtet. In einem 3. Teil schließt sich eine Übersicht über die *Elektrophorese an Trennsäulen* an.

Eine neue Technik der *Elektrophorese an Kartoffelstärke* haben R. BOURRILLON und R. GOT³ beschrieben. Hiernach können auch größere Mengen Serum-eiweiß, 200—500 mg, getrennt werden. Entsprechend der Abb. 3 wird in vertikaler Säule (2 × 40 cm) elektrolysiert, auf welche die Probe aufgegeben wird und in welche man entsprechend den erwarteten Wanderweiten die Probe auch mehr oder weniger tief einsickern lassen kann. Die Säule ist unten mit

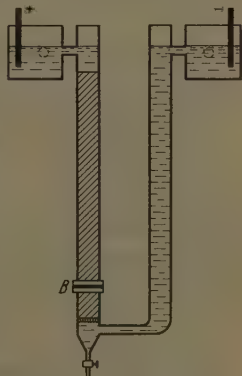


Abb. 3. Säulelektrophorese nach BOURRILLON und GOT

¹ Analyst (London) 80, 638—651 (1955). Glaxo Labs. Ltd., Greenford, Middlesex.

² Chim. analytique 37, 253—263, 283—300, 340—346 (1955). Inst. Pasteur, Paris.

³ Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 37, 915—923 (1955). Fac. de Médecine, Paris.

einer zweiten verbunden, die nur Pufferlösung enthält (Veronalpufferlösung von pH 8,6 oder Acetatpufferlösung von pH 4,5, beide in der Ionenstärke 0,05). An beide Säulen sind oben die Elektrodentröge angeschlossen, die die Platinelektroden aber in Teilkammern enthalten, und die zum Ausgleich elektrosmotischer Effekte durch eine Verbindungscapillare niveaugleich gehalten werden. Vor Einschalten des Stromes wird die ganze Apparatur 2—3 Std bei $0^\circ C$ temperiert und auch während der Elektrolyse bei dieser Temperatur belassen. Ein Stromfluß von 25—30 Milliamp. (700—800 V) bleibt dann während 24 Std konstant, d. h. es treten keinerlei Störungen durch Entwicklung JOULEscher Wärme auf. Nach beendeter Elektrolyse wird die Trennsäule bei *B* abgenommen und zentimeterweise herausgeschoben und abgeschnitten (30—35 Fraktionen). Jede Fraktion wird mit 2 ml Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung eluiert und durch eine grobe Glasfritte von der Stärke getrennt. Mit 1—2 ml wird nachgewaschen. Die Eluate (insgesamt je 4—5 ml) werden mit Hilfe der Biuret-Reaktion und auch photometrisch bei $280 m\mu$ analysiert. Die Kombination beider Auswertverfahren hat sich als besonders vorteilhaft erwiesen. — Es wird auf die besondere Bedeutung dieser Methode für eine extreme Reinigung von Einzelfractionen hingewiesen.

Im Anschluß an eine Diskussion der Störungen, die bei der *Zonenelektrophorese von Proteinen bei erhöhten Spannungsgefällen* durch JOULEsche Wärme und dadurch bedingte Pufferströmungen hervorgerufen werden, stellt H. MICHL¹ fest, daß sie am

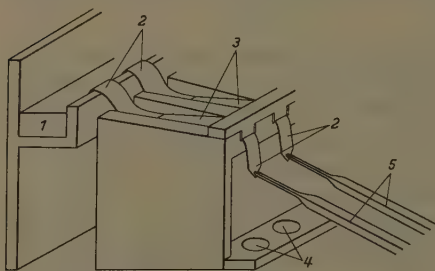


Abb. 4 Elution von Stärkeplatten nach MICHL.
1 Pufferlösung, 2 Filterpapier WB 28, 3 Stärke,
4 halbkugelförmige Ausnehmungen, 5 Capillaren

einfachsten eliminiert werden, wenn am freihängenden, trapezförmigen Streifen elektrolysiert wird. Insbesondere bei Schlangengiftprotease und bei huminartigen Substanzen aus Tabakblättern, wo auch dieses Verfahren versagt, wird folgende abgewandelte Methode von H. G. KUNKEL und R. J. SLATER² empfohlen: 1 Teil Kartoffelstärke (20 g für 100 cm) läßt man in 2 Teilen Pufferlösung 30 min quellen, dekantiert fünfmal und gießt die Masse auf eine nivellierte Glasplatte. Bei

$50^\circ C$ wird dann etwa 10 min getrocknet. Auf einen kühlbaren Metallblock aufgelegt, wird die Stärke in üblicher Weise mit Substanz beschickt. Der Stromanschluß wird durch in Pufferlösung getränkte Streifen hergestellt. Die Puffergefäße werden durch Stromschlüssel mit reversiblen Elektroden (AgCl) verbunden. Nach der Elektrolyse bei 20—50 V/cm werden die Zonen durch Abklatschen lokalisiert, die Stärke wird an diesen Stellen abgehoben und in Rinnen entsprechend der Abb. 4 eluiert.

M. MAKI³ hat festgestellt, daß die Länge einer Zone bei *elektrochromatographischen Analysen* von der Konzentration des wandernden Ions abhängt⁴ und daß auf diese

¹ Mh. Chem. (Wien) 85, 1251—1260 (1954). Univ. Wien.

² Proc. Soc. exp. Biol. Med. 80, 42 (1952); vgl. diese Z. 149, 125 (1956).

³ Jap. Analyst 4, 413—417 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.). Japan Women's Univ.

⁴ Vgl. auch M. MAKI, Jap. Analyst. 4, 74 (1955); vgl. diese Z. 149, 128 (1956).

Weise z. B. Barium und Aluminium bestimmt werden können. Das Ba (150 bis 1500 μg) wird am besten auf einem mit Actatpufferlösung (Ionenstärke 0,033—0,050) gesättigten Streifen, Aluminium (25—500 μg) am besten auf einem Streifen untersucht, der mit Salzsäure-Natriumacetatlösung getränkt ist. Der Analysenfehler liegt für die angegebenen Mengen bei $\pm 10\%$. Längenunterschiede der Zonen treten auch auf, wenn an sich gleiche Mengen in verschiedener Konzentration aufgetragen werden.

K. CRUSE

Zur Sichtbarmachung von wenig flüssigem oder dampfförmigem Wasser dort, wo es sich befindet oder hervortritt, bedient sich J. SIVADJIAN¹ der von ihm vor einigen Jahren entwickelten „Hygrophotographie“². Er benutzt dazu Platten mit einer Gelatineschicht, in die ein Silber-Quecksilberjodid-Komplexsalz eingebettet ist. Die gelbe Emulsion wird im Sonnenlicht blauschwarz und erhält im Dunkeln im Verlaufe einiger Tage, bei Berührung mit flüssigem Wasser oder Dampf aber sofort ihre gelbe Farbe zurück. Legt man auf eine geschwärzte Platte beispielsweise die Hand oder Pflanzenblätter, so erhält man Lagebilder der Transpirationssporen. Der Verf. teilt im Original eine Reihe weiterer interessanter Anwendungsmöglichkeiten in der Biologie und Meteorologie (u. a. Messung der Zahl und Größe von Nebel- und Regentropfen) mit.

F. NEUMANN

Zur turbidimetrischen Kontrolle von Lösungen hochmolekularer Stoffe schlägt B. SEDLÁČEK³ Vereinheitlichungen der praktischen Ausführungsmethoden für Betriebs- und Kontrollmessungen vor. Es werden Formeln abgeleitet zur Bestimmung des Molekulargewichts hochmolekularer Teilchen in einem System ohne destruktive Interferenz und ohne Wechselwirkung der Teilchen, wie auch für den gegenteiligen Fall. Ferner entwickelte der Verf. Gleichungen zur Ermittlung der Teilchengröße unter Berücksichtigung einheitlicher, polydisperser Teilchensysteme von sehr geringem Assoziationsgrad, und zwar für die Systeme Monomere + Dimere, Monomere + Dimere + Trimere sowie Monomere + monodisperse Polymere. Die mathematischen Einzelheiten sind dem Original zu entnehmen.

H. FREYTAG

Zur Darstellung von Produkten durch elektrolytische Reduktion oder Oxydation haben F. KAUFMAN, E. OSSOFKY und H. J. COOK⁴ ein Gerät konstruiert, das Elektrolysestromstärken bis zu 7 A bei Spannungen bis zu 150 V bei elektronisch kontrolliertem Potential zuläßt. Das Gerät, welches eine Weiterentwicklung des von A. HICKLING⁵ angegebenen darstellt, und dessen Aufbau genau angegeben ist, arbeitet nach folgendem Prinzip: Zunächst wird die Potentialdifferenz der Reaktionselektrode gegen eine Kalomelektrode auf den Sollwert 0 eingestellt. Wird elektrolysiert und treten Abweichungen von diesem Sollwert auf, so werden diese verstärkt dem Gitter einer im Elektrolysekreis liegenden Röhre (6AS7G) mit 250 Milliamp. Anodenstrom) zugeleitet, so daß dann der Abweichung entsprechend eine gewisse Sperrwirkung erhöht oder vermindert wird. Für hohe Stromstärken sind im ganzen 27 solcher Röhren parallel geschaltet. Die Empfindlichkeit dieses schnell ansprechenden Geräts ist hoch: Eine Potentialdifferenz von 1—2 mV entspricht einer Stromstärkeänderung von maximal 1 A.

¹ Anal. chim. Acta (Amsterdam) 9, 70—79 (1953). Inst. Pasteur, Paris.

² SIVADJIAN, J.: C. R. Acad. Sci. (Paris) 228, 1296 (1949).

³ Chem. Listy 49, 453—459 (1955) [Tschechisch]. Akad. Wiss., Prag.

⁴ Analyt. Chemistry 26, 516—519 (1954). Ballistic Res. Lab., Aberdeen Proving Ground, Md. (USA).

⁵ Trans. Faraday Soc. 38, 27 (1942).

Strom-Zeit-Kurven bei der kathodischen Reduktion von Hg^{II} , Pb^{II} , Cd^{II} , Fe^{II} , Cu^{II} und Zn^{II} bei verschiedenen Konzentrationen, sowie der meisten organischen Substanzen (Maleinsäure, alipath. Mono- und Poly-Nitroverbindungen, Nitroester und Polynitrate) ergaben mit der Theorie gut übereinstimmende Resultate, wenn konstant und langsam geführt wurde (Synchronmotor mit 200 U/min). Bei hohen Stromstärken treten Stromverluste durch Abwärme auf, die auch durch Temperierbäder nicht völlig behoben werden können. Interessant ist, daß an großflächigen Quecksilberelektroden etwa die gleichen Stromstärken erhalten werden wie an Tropfelektroden (0,30 bzw. 0,38 Milliamp./cm²). Grundsätzlich hängt das Bild aller Strom-Zeit-Kurven aber sehr von der Natur der reduzierten Substanz und von der Konzentration ab.

K. CRUSE

Über den Einfluß der Fällungsbedingungen auf die Morphologie von Bariumsulfatniederschlägen haben SH. OKADA und S. MAGARI¹ neue elektronenmikroskopische Untersuchungen angestellt². Bei Raumtemperatur ergeben sich bei der Fällung aus 0,1 m Lösungen sehr kleine Kriställchen, die entgegen früheren Befunden nicht zu Aggregaten vereinigt sind. In 0,01 m Lösungen entstehen bedeutend größere wohl ausgebildete Dendriten. Mit steigender Verdünnung werden die Kristallformen immer einfacher. Ähnliches gilt für Fällungen bei Siedehitze. Jeder Konzentration und Temperatur entspricht eine definierte charakteristische Kristallgestalt, so daß man aus der Kristallgestalt auf die Fällungsbedingungen zurückschließen kann.

A. KURTENACKER

Die Löslichkeit der Hydroxyde von Cadmium, Zink und Kupfer und die Abhängigkeit der Löslichkeit vom pH-Wert untersucht P. N. KOVALENKO³ mit Hilfe einer polarographischen Methode. Er fand, daß die Stärke des polarographischen Diffusionsstromes in verdünnten Lösungen (0,001 bis 0,01 m) wasserlöslicher Salze dieser Metalle beim Übergang von niederen zu höheren pH-Werten zunächst langsam absinkt. Dieser leichte Abfall wird durch vermehrte Hydratation und dadurch verringerte Beweglichkeit der Metall-Ionen erklärt. Von einem bestimmten pH-Wert an verringert sich der Diffusionsstrom bei steigendem pH-Wert wesentlich stärker (Knickpunkt in graphischer Darstellung). Dieser Punkt zeigt die Bildung des Metallhydroxyds in fester Phase (unter Umständen kolloidal verteilt und noch nicht sichtbar) an. Die untersuchten Lösungen enthielten außer dem betreffenden Schwermetallsalz noch Kaliumnitrat als Leitsalz (0,5 n) und Tropäolin zur Unterdrückung der Maxima. Aus der Stärke des Diffusionsstromes und der Wasserstoff-Ionenkonzentration können auch die Löslichkeitsprodukte der Metallhydroxyde berechnet werden. Die so gefundenen Werte stehen in gutem Einklang mit den von anderen Autoren auf anderen Wegen bestimmten Werten. Mit Hilfe der bedeutend rascheren und einfacheren polarographischen Methode konnte gezeigt werden, daß der pH-Wert des Beginnens der Bildung einer festen Phase und das Löslichkeitsprodukt einerseits von der Konzentration der Metallsalzlösung, und andererseits auch von der Temperatur abhängen. Die Fällung beginnt bei um so niedrigerem pH-Wert, je geringer die Konzentration und je höher die Temperatur ist.

W. ANTONI

Chloramin B als Oxydationsmittel in der Maßanalyse. A. SINGH⁴ behandelt die potentiometrische Bestimmung von Hydrochinon, Hydrazinsulfat, Kaliumantimonyl-

¹ Analyt. Chemistry 27, 1481—1484 (1955). Univ. Kyoto (Japan).

² Ähnliche Untersuchungen vgl. R. B. FISCHER: Analyt. Chemistry 23, 1667 (1951); E. SCHULEK, E. PUNGER und F. GUBA: Anal. chim. Acta (Amsterdam) 10, 506 (1954); vgl. diese Z. 138, 438 (1953); 144, 134 (1955).

³ Ž. prikl. Chim. (J. angew. Chem.) 26, 814—823 (1953) [Russisch]. Univ. Rostov.

⁴ J. Indian chem. Soc. 32, 544—546 (1955). Panjab Univ. College, Hoshiarpur.

tartrat, Chinhydron, Phenylhydrazin, $K_4Fe(CN)_6$, As_2O_3 , $FeSO_4$, KJ in saurer Lösung mit Chloramin B. Die Arbeit ist eine verkürzte Wiedergabe der früheren Veröffentlichung von B. SINGH und G. SINGH¹.

A. KURTENACKER

Über die Verwendung von Chloramin B in Verbindung mit Kaliumbromid bei bromatometrischen Titrationen berichten R. CH. PAUL und A. SINGH². In sauren Lösungen vollzieht sich die Reaktion: $C_6H_5SO_2N(Na)Cl + 2 KBr + 2 HCl = C_6H_5SO_2NH_2 + NaCl + 2 KCl + Br_2$. Man verwendet wie üblich das Kaliumbromid im Überschuß. Titrierbar sind: As^{III} , Sb^{III} , Sn^{II} , N_2H_4 , Fe^{II} , H_2SO_3 , H_2S , $TiCl$, $KSCN$, KCN , $K_4[Fe(CN)_6]$, $Na_2S_2O_3$, K_2SO_3 , $Na_2S_4O_6$ und Na_2S . Bei $KSCN$ und KCN wird $CNBr$ gebildet, alle schwefelhaltigen Substanzen werden zu SO_4^{2-} oxydiert. Bei den direkten Titrationen mit Indigocarmin oder Kaliumjodid-Stärke als Indicatoren erhält man nicht so genaue Resultate wie bei Rücktitrationen des Reagensüberschusses.

K. BRODERSEN

Chlordioxyd in Eisessiglösung als oxydimetrische Maßflüssigkeit. S. ŠKRAMOVSKÝ, Z. TAUER und J. NOVOTNÝ³ führten in Ergänzung ihrer früheren Arbeiten⁴ Versuche über die Anwendbarkeit der ClO_2 -Lösung zu Titrationen in nichtwäßrigem Medium aus. Es ergab sich, daß potentiometrische Bestimmungen von Hydrochinon und Jodid in Eisessiglösung möglich sind. Chlorid- und Bromid-Ionen stören die Jodidbestimmung aber viel mehr als in wäßriger Lösung. Die ClO_2 -Maßlösung wurde wie früher⁴ bereitet, auch die Titriereinrichtung entsprach der früher angewendeten. Als Indicatorelektrode diente ein Platindraht, die gesättigte Kalomelektrode war für das Arbeiten in Eisessiglösung modifiziert⁵. — *Titration von ClO_2 mit Hydrochinonlösung.* 10 ml ClO_2 -Lösung mit einem Gehalt von 1–4 mg ClO_2 werden mit Ammoniumacetat bis zur Konzentration 0,1 m versetzt. Man läßt dann 0,01 m Hydrochinonlösung in Anteilen von höchstens 0,3 ml zufließen und wartet vor jeder Ablesung 2 min. Die Resultate sind auf etwa 1% genau. 2 Mole ClO_2 entsprechen 1 Mol $C_6H_6O_2$, wahrscheinlich vollzieht sich die Reaktion: $2 ClO_2 + C_6H_6O_2 = C_6H_4O_2 + 2 HClO_2$. Das Verfahren wird zur Titerstellung der ClO_2 -Lösung empfohlen. — *Die Jodidbestimmung* wird in essigsaurer Lösung (ohne Ammoniumacetat) ausgeführt. 1–5 ml 0,01 m KJ -Lösung können mit 0,002 m ClO_2 -Lösung auf + 2% bis – 3% genau bestimmt werden. Ohne zu stören sind neben etwa 3 mg KJ maximal 0,25 mg Chlor- oder 0,35 mg Brom-Ionen bzw. 0,17 mg Cl^- und 0,35 mg Br^- in 10 ml Lösung zulässig.

A. KURTENACKER

Jodoxin als Reagens. Jodoxin (5,7-Dijod-8-oxychinolin) gibt nach A. K. MUKHERJEE und B. BANERJEE⁶ mit einer Anzahl von Metallen, ebenso wie Chloroxin und Bromoxin⁷, charakteristische Färbungen oder Niederschläge, z. B. mit Cu, Ni, Co, Fe^{III} , Pd, Th, Zr, Ti, Pb, UO_2^{2+} und VO_3^- . Das Reagens ist löslich in Pyridin und Dioxan; verwendet wird eine 1–2% ige Lösung in Dioxan. Quantitative Fällungen werden mit Cu, Ni, Fe, Zr, Th, U, V und Ti noch bei Mengen von etwa 0,2 mg in 200 ml erhalten. Der Kupferniederschlag kann bei 110–120° C ge-

¹ Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 569 (1954); vgl. diese Z. **146**, 455 (1955).

² J. Indian chem. Soc. **32**, 599–603 (1955). Panjab Univ. Coll., Hoshiarpur.

³ Coll. czechoslov. chem. Commun. **20**, 718–721 (1955); Chem. Listy **49**, 141 bis 142 (1955) [Tschechisch].

⁴ ŠKRAMOVSKÝ, S., Z. TAUER und J. NOVOTNÝ: Chem. Listy **48**, 1335 (1954); Coll. czechoslov. chem. Commun. **20**, 512 (1955); vgl. diese Z. **147**, 140 (1955).

⁵ TOMÍČEK, O., u. A. HEYROVSKÝ: Chem. Listy **44**, 169 (1950).

⁶ Naturwissenschaften **42**, 416–417 (1955). Assoc. for the Cultiv. of Science, Calcutta (Indien).

⁷ BERG, R.: Z. anorg. allg. Chem. **204**, 208 (1932); BERG, R., und H. KÜSTEN-MACHER: Z. anorg. allg. Chem. **204**, 215 (1932); vgl. diese Z. **96**, 433 (1934).

trocknet und direkt gewogen werden. Kleine Mengen Eisen geben in Abhängigkeit vom pH-Wert eine grüne, Uran eine orangerote Färbung, die zur colorimetrischen Bestimmung dieser Metalle dienen kann. Die Eisen- und Urankomplexe sind in Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol und Schwefelkohlenstoff löslich und können daher mit diesen Reagentien aus der wäßrigen Lösung extrahiert werden. G. DENK

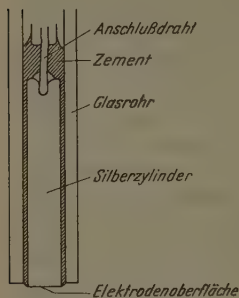


Abb. 1
Silberelektrode nach GORDON

Als zuverlässige Silberelektrode für potentiometrische Messungen empfiehlt C. L. GORDON¹ die in Abb. 1 wiedergegebene Konstruktion, bei der das herausragende Zylinderstück des Silberrohrs, das im übrigen durch Glas vor Luftwirkung geschützt wird, leicht poliert oder auch abgeschliffen werden kann, so daß speziell bei Halogenidtitrationen eine einwandfreie Elektrodenfunktion sichergestellt ist. Wird das Silberrohr nicht mit Zement, sondern z. B. mit Picein im Glasrohr vergossen, dann kann es auch nach gelindem Erwärmen bei Bedarf nachgeschoben werden. K. CRUSE

Die Brauchbarkeit von Tellurelektroden für Säure-Base-Titrationen haben A. R. TOURKY, I. M.

ISSA und S. A. AWAD² untersucht. Es wurden 3 verschiedene Elektroden verwendet; die erste war ein Stab aus Tellur, die zweite wurde durch elektrolitische Abscheidung von Tellur aus einer Lösung von TeO_3 in 10^{-3} n Salzsäure und die dritte ebenso, aber aus 1,5 n Salzsäure erzeugt. Je nach ihrer Herstellung zeigten sie verschiedenes Verhalten. Die bei 25°C durchgeführten Messungen ergaben, daß bei allen 3 Elektroden das Potential nach 3 Std noch konstant war, daß aber die Einstellung des Gleichgewichtes mit der 1. am längsten dauerte. Die pH-Spannungskurve verläuft nur bei der 3. von pH 3—11 linear, bei den beiden anderen ergaben sich 2 Gerade von pH 1—5 und 7—12. Nur die 3. ist daher für pH-Messungen und Säure-Base Titrationen zu empfehlen. — Die Bestimmung der 2. Dissoziationskonstanten einiger mehrbasischer Säuren mit dieser Elektrode lieferte hinreichende Übereinstimmung mit Werten aus der Literatur. G. Denk

Ein photoelektrisches Polarimeter, das im wesentlichen mit dem von E. LANDT und H. HIRSCHMÜLLER³ beschriebenen übereinstimmt, wurde von T. B. CRUMPLER, W. H. DYRE und A. SPELL⁴ konstruiert. Verff. geben auch ein einfaches Einsatzgerät an, mit dessen Hilfe man ein photoelektrisches Colorimeter (Lumetron 402-E) zu polarimetrischen Messungen benutzen kann, was den Vorteil hat, daß die störende Auswirkung von Spannungsschwankungen (wie sie bei dem Einzellengerät³ feststellbar ist) durch die Verwendung zweier Photozellen vermieden wird. Die Reproduzierbarkeit der Messungen wird mit etwa 0,03° angegeben. Als offensichtliche Fehlerquellen der Apparatur werden genannt: die nicht völlig monochromatische Beleuchtung, die nur annähernd der NaD -Linie entspricht, die nur unvollkommene Polarisation des Lichtes durch die verwendeten Polarisationsplatten, die nicht vollständige Parallelität der Lichtstrahlen und der Umstand, daß die beiden Photozellen unterschiedliches (polarisiertes bzw. nichtpolarisiertes) Licht empfangen. Weitere Untersuchungen sollen sich anschließen. F. SCHÄRTL

¹ Analyt. Chemistry 27, 1508 (1955). Nat. Bur. Standards, Washington, D. C.

² Chim. analytique 37, 367—371 (1955)

³ Dtsch. Zuckerind. 62, 647 (1937); vgl. diese Z. 126, 463 (1943).

⁴ Analyt. Chemistry 27, 1645—1648 (1955). Univ. New Orleans, La. (USA).

Röntgenstrahlen-Photoelektronen-Spektrometer mit elektrostatischer Ablenkung. R. G. STEINHARDT jr., F. A. D. GRANADOS und G. I. POST¹ berichten über eine Apparatur zur Aufnahme von Röntgenstrahlspektren. Das Gerät dient zur Untersuchung von Oberflächen und ist besonders für Serienanalysen geeignet, da eine Aufnahme in etwa 10 min ausgeführt werden kann. — Das Original enthält Zeichnungen und eine ausführliche Beschreibung. G. DENK

Eine Gasanalyseapparatur auf dem Ionisationskammerprinzip beschreiben P. F. DEISLER jr., K. W. MCHENRY jr. und R. H. WILHELM². Bringt man in eine Ionisationskammer eine α -strahlende Substanz, deren Strahlung über längere Zeit konstant ist (z. B. RaD im Gleichgewicht mit ²¹⁰Po), so hängt bei konstantem Gesamtgasdruck der gemessene Ionisationsstrom lediglich von der Zusammensetzung des Füllgases in der Kammer und der angelegten Elektrodenspannung ab. Stellt man sich nun bei konstanter Elektrodenspannung Eichkurven her, in denen die bekannte Gaszusammensetzung gegen den Ionisationsstrom aufgetragen wird, so ist es möglich, binäre Gasmischungen unbekannter Zusammensetzung zu analysieren. Bei Verwendung eines Dreieckskoordinatensystems für die entsprechenden Eichkurven läßt sich das Verfahren auch auf ternäre Systeme ausdehnen. Konstruktion und Schaltbild einer für die kontinuierliche Gasanalyse geeigneten experimentellen Anordnung wird in allen Einzelheiten angegeben; die Analyse der Gasgemische H_2-N_2 , $H_2-C_2H_4$, $C_2H_4-C_2H_6$, H_2-CO_2 und $N_2-H_2-C_2H_6$ wird beschrieben. Wegen der praktischen Durchführung ist im Original nachzulesen.

F. WEIGEL

Ein Digestions- und Filtrierapparat zur Extraktion von festen Substanzen wird von G. R. VAN ATTA und J. GUGGOLZ³ beschrieben. Der in Abb. 1 wiedergegebene

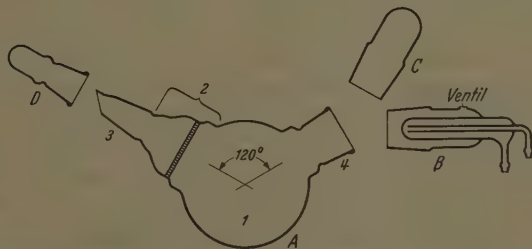


Abb. 1. Apparat zur Extraktion fester Substanzen nach VON ATTA und GUGGOLZ

Apparat ist dem bekannten Filterbecher von E. SCHWARZ-BERGMAMPF⁴ nachgebildet. Das mit Lösungsmittel oder Reagenslösung zu behandelnde Material, z. B. Pflanzenmaterial, kommt in das 300—3000 ml fassende Gefäß A. Soll es längere Zeit mit Flüssigkeit bei Raumtemperatur digeriert werden, kann man die Öffnungen 3 und 4 mit den Kappen C und D verschließen, beim Behandeln in der Hitze verschließt man mit dem Rückflußkühler B. Nach der Digestion wird der Apparat mit der Öffnung 3 auf eine Saugflasche aufgesetzt. Man saugt die Flüssigkeit durch die Glasfritte ab und kann die Digestion gleich wiederholen. A. KURTENACKER

¹ Analyt. Chemistry 27, 1046—1050 (1955). Lehigh Univ., Bethlehem, Pa. (USA).

² Analyt. Chemistry 27, 1366—1374 (1955). Univ. Princeton, N. J. (USA).

³ Analyt. Chemistry 27, 1669—1670 (1955). Dpmt. Agricult., Albany, Calif., USA.

⁴ Diese Z. 69, 336 (1926).

II. Analyse anorganischer Stoffe

Silber. Nach M. MALÍNEK¹ kann Silber ebenso wie Quecksilber² mit *Mercapto-phenylthiohydrazolon* in Gegenwart von Äthylendiamintetraacetat (Komplexon III) quantitativ gefällt und durch Wägung des Niederschlages bestimmt werden. Cu, Pb, Cd, Bi, Tl, Fe, Al, Cr, Ni, Co, Mn und Zn stören bei Zusatz hinreichender Mengen Komplexon nicht. Sb, Sn, Ti, Be lassen sich mit Wein- oder Citronensäure maskieren, UVI wird durch Tiron gebunden. As, W und Mo stören auch ohne Zusatz von Maskierungsmitteln nicht, so daß Quecksilber das einzige Metall ist, das die Silberbestimmung verhindert. — *Ausführung.* Die etwa 5–20 mg Ag (gegebenenfalls auch weniger als 1 mg Ag) enthaltende Lösung wird mit 1–2 ml 1 n Ammoniumacetatlösung, der ausreichenden Menge von festem Komplexon und mit Ammoniak bis zur Rotfärbung von Phenolphthalein versetzt. Nach dem Verdünnen auf 200 ml und Erhitzen zum Kochen fällt man mit einem kleinen Überschuß an 5% iger wäßriger Reagenslösung. Der gelbe Niederschlag ballt sich gut zusammen. Er wird noch warm in einen Glasfiltertiegel filtriert, mit heißem Wasser gewaschen, bei 105° C getrocknet und als $\text{Ag}(\text{C}_2\text{N}_2\text{S}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_5)$ (Mol.-Gew. 333,2) gewogen. Die Analysenfehler betragen in reinen Silberlösungen und in solchen mit verschiedenen Fremdmetallen +0,2 bis –1,5%. — Das Verfahren wurde auch zur Silberbestimmung in kiesel-säurereichen Schlacken nach der Silbergewinnung angewendet. Man raucht die Probe nach dem Schmelzaufschluß mit Schwefelsäure ab, filtriert die abgeschiedene Kieselsäure, fällt im Filtrat die Metalle der Kupfer- und Arsengruppe mit H_2S , löst den Niederschlag in HNO_3 – H_2SO_4 und bestimmt das Silber in der Lösung wie beschrieben. Die Ergebnisse stimmen mit den durch Wägung als AgCl gefundenen Zahlen gut überein.

A. KURTENACKER

Beryllium. V. I. KUZNECOV³ berichtet über Verbindungen, die mit Beryllium empfindliche Farbreaktionen geben. Verbindungen mit der Atomgruppierung $(\text{HO})(\text{Aryl})\text{-N} = \text{N}(\text{Aryl})(\text{OH})$ ermöglichen noch den Nachweis und die Bestimmung von 0,1–2 µg Be in Verbindungen bis zu $1:10^5$. Zu diesen Verbindungen gehören u.a. 2,4-Dioxybenzol-(1-azo-1)-8-oxynaphthalin-3,6-disulfonsäure (I), 2-Oxy-4-diäthylaminobenzol-(1-azo-1)-8-oxynaphthalin-3,6-disulfonsäure (II), 8-Oxynaphthalin-3,6-disulfonsäure-(1-azo-2)-1-amino-8-oxynaphthalin-3,6-disulfonsäure (III). — *Colorimetrische Bestimmung.* Man fügt zu 3 ml einer neutralen oder schwach-sauren Lösung, die 0,2–1,2 µg Be enthält, 0,5 ml einer wäßrigen 0,05–0,1%igen Lösung eines dieser Reagentien I bis III sowie 1 ml 20%ige Pyridinlösung, erhitzt auf 80–90° C und colorimetriert nach 15 min. Die 50–100 fache Mengen von Al, Fe, Ca, P, F, Seltenen Erden und anderen Elementen beeinträchtigen die Bestimmung nicht. — Für den qualitativen Nachweis von Beryllium wird „Arsenazo“ (Benzol-2-arsonsäure-[1-azo-2]-1,8-dioxynaphthalin-3,6-disulfonsäure)⁴ empfohlen. Zur neutralen oder schwachsauren Prüflösung (pH-Optimum 6–6,5) gibt man 1 bis 2 Tropfen 0,05% iger wäßriger Arsenazolösung und einige Tropfen (jedesmal schüt-teln) 25% ige Urotropinlösung. Eine rotviolette Färbung weist Be nach (bei Rosa-färbung ist kein Be vorhanden). 0,02 µg Be bei einer Verdünnung bis zu $1:10^5$ geben nach 1–2 min die Reaktion. Dieselbe Menge Be kann bei einer Verdünnung von $1:10^5$ als Tüpfelprobe nachgewiesen werden. Ionen von BeF_4^{2-} geben die Re-aktion nicht; Phosphate und Arsenate stören. UIV, CuII, Th, VIV, FeIII, Al, Seltene

¹ Chem. Listy 49, 1400–1401 (1955) [Tschechisch]. Čsl. Akad. Wissensch. Prag.

² ŠEDÍVEC, V.: Chem. Listy 45, 177 (1951); Collect. czechoslov. chem. Commun. 15, 1076 (1950); vgl. diese Z. 137, 223 (1952/53).

³ Ž. anal. Chim. 10, 276–285 (1955) [Russisch]. Akad. der Wiss., Moskau.

⁴ Herstellung von Arsenazo vgl. V. I. KUZNECOV, Ž. anal. Chim. 7, 226 (1952).

Erden, Ga, Sc, ZrO_2 , PdII, IrIII, CrIII, TiIV geben mit Arsenazo ebenfalls Farbreaktionen. Alle diese Elemente können aber durch Zusätze maskiert werden, und zwar Al, Ga, Fe, Ti, Zr durch Tartrate, Seltene Erden, Fe, Cu, (bis 0,1 mg/ml), Ti, Zr durch Oxalate, Th durch Wolframate, U durch neutrales H_2O_2 , größere Cu-Mengen durch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Bei Anwendung von Tartraten und Oxalaten empfiehlt es sich, den pH-Wert bei 7 zu halten, da sonst ($\text{pH} < 6,5$) Be mit maskiert wird. — *Nachweis von Be in Gegenwart von Al.* Man versetzt die Prüflösung tropfenweise mit gesättigter Seignettesalzlösung (1 Tropfen je Milliliter Lösung oder Milligramm Al) und fügt 25%ige Urotropinlösung bis zum Verschwinden der sauren Reaktion (auf Kongo) zu. Die Lösung wird sodann halbiert, zur einen Hälfte 1 Tropfen Arsenazo, zur anderen Bromthymolblaulösung zugegeben und beide Lösungen mit gleichen Mengen gesättigter Boraxlösung versetzt, bis die bromthymolblauhaltige Lösung dunkelgrün ist ($\text{pH} 7$). — Die Maskierung von Al gelingt auch mit Trilon B. — *Bei Gegenwart von Fe^{3+}* sind Oxalate eher zu empfehlen als Tartrate (je Milligramm Fe 5–7 Tropfen gesättigte NH_4 -Oxalatlösung). Fe^{2+} zerstört das Arsenazo bei pH 7 (und höher). Für je 1–1,5 mg Sesquioxide der Seltenen Erden sind 2 Tropfen NH_4 -Oxalat erforderlich. Auf die angegebene Art kann Be in Gegenwart von 1000fachen Mengen Fe, U, Cu, 4000fachen von Al, über 8000fachen an Seltenen Erden nachgewiesen werden. — *Zum Nachweis von Beryllium in Mineralien* wird die feinstgepulverte Probe in der Platinöse mit Soda geschmolzen, die Perle in verdünnter Salzsäure gelöst, eingeeengt und mit 5–10 ml Wasser verdünnt. Man setzt 1–2 Tropfen 60%ige wäßrige SnCl_4 -Lösung hinzu, kocht auf und neutralisiert gegebenenfalls mit einigen Tropfen NaHCO_3 -Lösung bis zu schwach saurer Reaktion (Violettfrärbung von Kongopapier), kocht auf und filtriert. Zum Filtrat werden tropfenweise Seignettesalzlösung, NH_4 -Oxalat und 25%ige Urotropinlösung zugegeben (bis zum Verschwinden der sauren Reaktion auf Kongo). Die Lösung wird halbiert und weiter wie bei der Trennung von Al und Be verfahren. Die rotviolette Farbe darf bei Zusatz von H_2O_2 nicht verschwinden. In Abwesenheit größerer Mengen von Phosphaten, Arsenaten, Fe und Th kann der Zusatz von Seignettesalz, NH_4 -Oxalat und Urotropin unterbleiben.

B. SUSEELA¹ untersuchte die *volumetrische Berylliumbestimmung nach Hydrolyse des Berylliumsulfats mittels eines Gemisches von KJ + KJO_3* . — Zu einer Lösung von BeSO_4 werden ein Überschuß an 0,05 m KJO_3 -Lösung, 3–5 g KJ sowie ein abgemessener Überschuß titrierter Natriumthiosulfatlösung zugegeben. Man erwärmt 4–5 Std bei 50–60° C im Thermostaten. Nach dem Abkühlen wird der Überschuß an Thiosulfat mit Jodlösung zurücktitriert. Da bei der Hydrolyse ein Mol BeSO_4 2 J frei setzt, entspricht 1 ml 1 n Thiosulfatlösung 0,01251 g BeO. Das ausgeschiedene $\text{Be}(\text{OH})_2$ wird abfiltriert und geglüht. Die Übereinstimmung beider Bestimmungsverfahren (Kontrolle durch Vergleichen) ist durchaus befriedigend. Die Hydrolyse des Berylliumsulfats geht ohne Überschuß an $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ nicht zu Ende. Die Thiosulfatlösung zeigte keine Titerveränderung nach 4–5 stündigem Erwärmen. Das Verfahren könnte auch zur Bestimmung anderer Elemente verwendet werden, deren Sulfatlösungen sich hydrolysieren lassen.

A. v. WILPERT

M. SUNDERASAN und M. S. DAS² geben eine Methode zur *indirekten colorimetrischen Berylliumbestimmung* für 2–20 ppm. Be an, die auf $\pm 5\%$ genau arbeitet. Man fällt als BeNH_4PO_4 bei Anwesenheit von Komplexon zur Maskierung störender Elemente (Cu, Ni, Zn, Fe, Al, Ca, Mg) und colorimetriert den Phosphatgehalt der Fällung nach der Phosphormolybdänsäuremethode. Titan stört auch bei Komplexongegenwart; man beseitigt diese Störung durch Zugabe

¹ Ž. anal. Chim. 10, 286–288 (1955) [Russisch]. Univ. Banares (Indien).

² Analyst (London) 80, 697–699 (1955). Atom. Energy Establ., Bombay (Indien).

von H_2O_2 . — *Ausführung.* Man schließt 0,5 g der zu untersuchenden Erzprobe mit Soda auf, entfernt die Kieselsäure, bringt einen aliquoten Teil der salzsauren Untersuchungslösung in ein 40 ml-Zentrifugenglas, verdünnt auf 30 ml, fügt 1 ml 10%ige $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung, 2–3 Tropfen 0,05%ige alkoholische Bromkresolgrünindicatorlösung und tropfenweise verdünnte Salzsäure (1:1) bis zum Farbumschlag zu. Dann versetzt man mit 1 ml 10%iger Lösung von Dinatriumäthylendiamintetraacetat und einigen Tropfen Wasserstoffperoxyd, erhitzt auf dem Wasserbad und fügt tropfenweise 2 n Ammoniumacetatlösung bis zur Blaufärbung (pH 5,0) zu. Man läßt 30 min in der Hitze stehen, zentrifugiert 15 min bei 2500 U/min, dekantiert, filtriert, wäscht dreimal mit 2%iger Ammoniumnitratlösung, die durch Ammoniumacetatzugabe auf pH 5,3 gebracht wurde, löst den Niederschlag auf dem Filter in heißer verdünnter Salpetersäure (1:4), dampft die Lösung zur Entfernung der Salpetersäure ein, löst in 5 ml 2 n Schwefelsäure und 5 ml 10%iger Natriummolybdatlösung, verdünnt auf 50 ml und colorimetriert nach 15 min bei 390, 400 oder 420 $\text{m}\mu$. Den Berylliumgehalt entnimmt man einer unter den gleichen Bedingungen hergestellten Eichkurve.

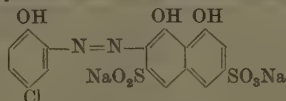
Nach T. AKIYAMA¹ trennt man *Beryllium von Aluminium, Eisen und Mangan*, indem man mit Ammoniumsulfid FeS und MnS fällt, dann Ammoniumcarbonatlösung zur Ausfällung von $\text{Al}(\text{OH})_3$ zugibt, im Filtrat das Be als $\text{Be}(\text{OH})_2$ fällt und nach dem Glühen als BeO wägt. Bei Anwesenheit von *Eisen und Aluminium* allein fällt man Beryllium zusammen mit diesen als Hydroxyd, überführt mit wenig Eisessig in die basischen Acetate, extrahiert mit Chloroform, wäscht mit Wasser, dampft zur Trockne ein, nimmt das $\text{Be}_4\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6$ mit Wasser auf, entfernt das Eisen nach der Methode von MOSER und ROTHE und bestimmt den Rückstand als BeO .

K. BRODERSEN

Die *papierchromatographische Trennung von Be, Ge, In und Ga* gelingt nach R. G. DE CARVALHO und M. LEDERER² mit Butanol—3 n Salzsäure als Lösungsmittel (100 ml Butanol, 30 ml konz. Salzsäure, 70 ml Wasser). Als R_f -Werte wurden gefunden für Be^{2+} 0,30, In^{3+} 0,40, Ge^{4+} 0,54 und Ga^{3+} 0,70. Weniger günstig für eine Trennung erscheinen die R_f -Werte in Butanol-1 n, -6 n und -12 n Salzsäure.

G. DENK

Magnesium, Erdalkalien. F. YANAGISAWA³ gibt eine Zusammenfassung der *colorimetrischen Methoden zur Calcium- und Magnesiumbestimmung mit 1-Oxy-4-chloro-2,2-diazobenzol-1,8-oxynaphthalin-3,6-disulfonsaurem Natrium*, die er in den letzten



Jahren für die Untersuchung von Seren, Wasser und Nahrungsmitteln gearbeitet hat⁴. Der Farbstoff, dessen Konstitution der des Eriochromschwarz T sehr ähnlich ist, ist purpurfarben. Er wird bei Anwesenheit von Calcium oder Magnesium rot gefärbt. Man colorimetriert bei 620 $\text{m}\mu$, verwendet eine 0,00025 m Reagenslösung und arbeitet in natronalkalischer Lösung. — *Ausführung. Bestimmung von*

¹ Jap. Analyst 4, 417—420 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.). College Pharm., Kyoto (Japan).

² Anal. chim. Acta (Amsterdam) 13, 437—438 (1955). Institut du Radium, Paris.

³ J. Biochemistry (Tokyo) 42, 3—11 (1955). Tokyo-to Labs. Med. Sci. Tokyo.

⁴ YANAGISAWA, F.: Niigata Med. J. 65, 760, 838 (1951); 66, 90, 302, 837, 843 (1952); 67, 387 (1953).

Ca und Mg im Serum. Man mischt in einer Proberöhre 0,4 ml Wasser mit 0,1 ml Serum, fügt 2 ml 0,00025 m Reagenslösung und kurz danach 2,5 ml 0,2 n NaOH-Lösung zu und mißt genau 3 min nach dem Mischen bei 620 $m\mu$ gegen eine Blindlösung der Reagentien. Die Ablesung entspricht der Summe Ca + Mg. Zur Bestimmung von Calcium allein fügt man noch 0,5 ml 10 n NaOH-Lösung zu, um $Mg(OH)_2$ auszufällen. Nach 5 min liest man wieder bei 620 $m\mu$ ab. Der $Mg(OH)_2$ -Niederschlag stört die Ca-Bestimmung nicht. Da die photometrische Ablesung für eine Lösung mit 4,1 μg Ca die gleiche ist wie für eine Lösung mit 2,5 μg Mg, ist es nicht notwendig, eine besondere Eichkurve für Mg anzulegen. Mit Standard-Calciumlösung werden 2 Eichkurven, eine für 0,2 n, die andere für 10 n NaOH-Lösung angefertigt. — *Für die Bestimmung von Ca und Mg im Wasser* verwendet man 0,5 ml Wasserprobe, fügt 0,4 ml dest. Wasser zu und verfährt weiter wie bei Serum. Sind (z. B. in Mineralwasser) schwere Metalle (Fe, Co, Ni, Mn) zugegen, so versetzt man 0,5 ml Probe mit 0,5 ml 1%iger NaCN-Lösung, erwärmt unter Schütteln 10 min auf 40 bis 50° C, zentrifugiert und verwendet 0,5 ml der klaren Lösung für die weiteren Operationen. — *Bestimmung von Ca und Mg in Nahrungsmitteln.* Man verascht 1 bis 5 g Probe bei Rotglut, löst die Asche in wenig 2 n Salzsäure, verdünnt bis zu einem Gehalt von etwa 20 μg Ca + Mg in 0,5 ml und behandelt diese wie bei der Untersuchung von Mineralwasser.

K. BRODERSEN

SH. YOKOSUKA, M. TANAKA und H. MORIKAWA¹ teilen eine *flammenphotometrische Methode* mit, nach der Calciumoxyd und Magnesiumoxyd gemeinsam bis zu Gehalten von 500 ppm. bzw. 1000 ppm. bestimmt werden können. Die Verf. benutzen ein Beckman DU-Spektralphotometer, mit dem sie die Intensitäten der Calciumlinie 554 $m\mu$ mit einer Spaltbreite von 0,15 mm und die Magnesiumlinie 371 $m\mu$ mit einer Spaltbreite von 0,5 mm messen. Als Heizgas für den Brenner dient ein Wasserstoff-Sauerstoff-Gemisch. Da zwar die Calciumanalyse nicht durch Magnesium, wohl aber die Magnesiumanalyse durch Calcium gestört wird, bestimmen die Verf. zunächst den Calciumgehalt und subtrahieren dann in der üblichen Weise die vom Calcium an der Stelle der Magnesiumlinie verursachte Untergrundstrahlung von der gemessenen Magnesiumintensität. Da die Gegenwart anderer Elemente wie Aluminium, Eisen, Mangan usw. die Bestimmung merklich stört, ist es notwendig, vor der Analyse diese Elemente abzutrennen.

F. ROSENDAHL

W. NIELSCH² stellte bei Untersuchungen über die *komplexometrische Calciumbestimmung* in Gegenwart von störenden Metallen fest, daß die Titration von 20 mg Ca neben bis zu dreifachem Magnesiumüberschuß genaue, neben 20fachem Mg-Überschuß um etwa 15 bis 20% zu niedrige Werte liefert. Das von R. PŘIBIL³ zur Maskierung von Fe, Al und Mn empfohlene Triäthanolamin bewährt sich sehr gut. Bei Zusatz von Triäthanolamin und Kaliumcyanid (in dieser Reihenfolge, nicht umgekehrt) werden auch viele andere Metalle maskiert, die einzeln oder gemeinsam vorliegen können. 50 mg Ca wurden neben Ag, Hg, Cu, Zn, Pb, Mn, Al, Fe, Ni, Co, As^{III}, As^V, Sb^{III}, Sn^{II}, Sn^{IV} auf $\pm 0,1$ mg genau wieder gefunden. Cd und Sb^V stören. — *Ausführung.* Die zu untersuchende Lösung wird mit 25 ml 30%igem Triäthanolamin versetzt und mit 25 ml 15%iger NaOH-Lösung auf pH 12 gebracht. Dann fügt man 0,5 bis 1 g Kaliumcyanid zu, versetzt die etwa 100 ml betragende Flüssigkeit mit 0,2 g Murexidindicator (1 g Farbstoff + 100 g NaCl) und titriert mit

¹ Jap. Analyst 4, 437—440 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.). Besshi Mine Office, Sumitomo Metal Mining Co., Ltd. (Japan).

² Glas-Email-Keramo-Technik 6, 73—78 (1955).

³ Chem. Listy 47, 1333 (1953); Coll. czechoslov. chem. Commun. 19, 58 (1954); vgl. diese Z. 142, 456 (1954); 143, 301 (1954).

0,05 m Komplexon III (Idranal III von Riedel de Haën)-Lösung zur Blaufärbung. — Der Verf. empfiehlt das Verfahren zur *Calciumbestimmung in Flußspat*, die folgendermaßen auszuführen ist: Man vermischt 1,0 g des feinstgepulverten und gebeutelten Minerals in einer Platinschale mit 9 ml konz. Schwefelsäure und raucht innerhalb 30 bis 60 min ab, indem man von oben mit einem Oberflächenstrahler erhitzt. Der Rückstand wird mit 400 ml Säuregemisch [100 ml Salzsäure (D 1,12) + 20 ml Schwefelsäure (1 + 4) im Liter] verrieben und 1 bis 3 Std unter Ersatz des verdampfenden Wassers gekocht. Man filtriert, (wenn nötig unter Zusatz von Filterschleim), füllt das Filtrat im Meßkolben auf 500 ml auf und verwendet 50 oder 100 ml zur Calciumtitration, die wie oben angegeben, jedoch unter Zusatz von 30 ml 30% iger Triäthanolaminlösung und nur einigen Körnchen Kaliumcyanid ausgeführt wird. — In einer gesonderten Probe von 1 g Flußspat kann das als CaCO_3 vorliegende Calcium nach Extraktion mit 10 ml 10% iger Essigsäure bestimmt werden. In einem aliquoten Teil des Schwefelsäureaufschlusses des Flußspats kann auch das Eisen komplexometrisch bestimmt werden, indem man zunächst mit einigen Tropfen Bromwasser oxydiert, den Überschuß verkocht, dann mit 50% iger Ammoniumacetatlösung auf pH 2,3 einstellt und bei 45—50° C nach Zugabe von 2 ml 2% iger Sulfosalicylsäurelösung mit 0,05 m Komplexonlösung titriert.

A. KURTENACKER

A. J. LLACER¹ beschreibt den *Nachweis von Barium, Strontium und Calcium mit Hilfe von Natriumrhodizonat*. — Die bekannte *Tüpfelprobe für Barium und Strontium* (die sehr vom pH -Wert der Lösung beeinflusst wird) wurde verbessert durch Behandlung des mit Natriumrhodizonat (frisch bereitete, 0,5% ige, wäßrige Lösung) erhaltenen Tüpfelfleckens mit einem Dimethylaminhydrochloridreagens, dessen pH -Wert von 4,5—5,5 günstiger ist, als der der sonst verwendeten Salzsäure (1:20)². Auf den braunen oder rotbraunen Flecken gibt man genügend Dimethylaminhydrochloridreagens (gesättigte Lösung + gleiches Vol. 95% iges Äthanol), so daß es sich über den Fleck hinaus ausbreitet. Dieser wird daraufhin bei Anwesenheit von Barium leuchtendrot, von Strontium allmählich blauviolett gefärbt. Die Grenzkonzentration beträgt für Ba 1:666 000, für Sr 1:83 000 (rotbrauner Fleck) bzw. 1:6600 (blauvioletter Fleck); die Nachweisgrenze liegt bei 0,015 μg (Ba) und 0,12 μg bzw. 1,5 μg (Sr); das Grenzverhältnis ist 330 Sr : 1 Ba. Sind sowohl Ba als auch Sr vorhanden, so erhält man einen leuchtendroten Fleck, umgeben von einem blauvioletten Ring, der mit dem Lösungsmittel nach außen wandert. — Für *Calcium* wird folgender *Mikrokristallnachweis* angegeben: 10 μl der Probelösung trocknet man auf einem Objektträger ein, bringt auf den Rückstand 10 μl Reagens (unmittelbar vor Gebrauch hergestellte, völlig klare Lösung von 1,5 mg Na-rhodizonat in 0,3 ml einer 0,1% igen Lösung von Benzoesäure in einem Wasser-Äthanolgemisch [1:1]) und beobachtet unter dem Mikroskop die Kristallbildung. Bei Anwesenheit von Calcium scheidet sich nach kurzer Zeit ein leuchtendgelb bis orangeroter Niederschlag aus, dessen einzelne Kristalle die Form von Rhomben, gekreuzten Rosetten und Sternen haben (Abb. im Original). Die Grenzkonzentration für diesen Nachweis beträgt 1:33 000 (neben Ba oder Sr) bzw. 1:40 000 (neben Mg), die Nachweisgrenze 0,33 μg bzw. 0,25 μg . Folgende Grenzverhältnisse werden angegeben: 1 Ca:150 Ba, 1 Ca:100 Sr und 1 Ca:880 Mg. — Die beschriebenen Nachweisreaktionen werden gestört durch Ammoniak oder starke Basen, Schwermetalle², sowie Anionen, die mit Erdalkalien Fällungen ergeben. — Sind mehrere Erdalkalien nebeneinander in der Probelösung vorhanden, so ist es erforderlich, den im Folgenden beschriebenen *Trennungsgang* durchzuführen; dieser gestattet auch, die vorhandenen Mengen an Ba, Sr, Ca und Mg auf $\pm 10\%$ bis $\pm 20\%$ abzuschätzen:

¹ Mikrochim. Acta (Wien) 1955, 921—926. Dir. Nac. Quím., Rosario (Argent.).

² Vgl. FEIGL, F.: Qualitative Analysis by Spot Tests. Elsevier, New York, 1946.

10 μ l der Probelösung behandelt man mit je 15 μ l Ammoniumcarbonatreagens¹ und 95%igem Äthanol (bei viel Niederschlag gibt man nochmals je 15 μ l zu), schüttelt 10 min, zentrifugiert, wäscht den Niederschlag mit etwas Ammoniumcarbonatreagens, löst ihn in 5–15 μ l 6 m Essigsäure, dampft zur Trockene, nimmt mit 20 μ l 12 m Salzsäure auf, dampft nochmals ein und extrahiert den Rückstand mit 2 mal je 10 μ l Wasser. 5 μ l der so erhaltenen Lösung verwendet man für die Tüpfelprobe auf *Ba* und *Sr*. Die restlichen 15 μ l versetzt man mit je 5 μ l Wasser und 6 m Essigsäure, fügt 2 μ l-Anteile von 0,5 m Ammoniumsulfatlösung hinzu, bis die Fällung vollständig ist, digeriert 2 min auf dem Wasserbad, läßt abkühlen und zentrifugiert. Durch Vergleich der Niederschlagsmenge mit einer bekannten Menge SrSO_4 kann man die Summe des vorhandenen *Ba* und *Sr* abschätzen. Nun gibt man zum Zentrifugat 6 m Ammoniaklösung bis zur Alkalität gegen Phenolphthalein und noch 3 μ l darüber hinaus, versetzt die Lösung mit einem gleichen Volumen Wasser und 3 μ l 1,5 m Kaliumoxalatlösung, rührt und läßt 15 min (bzw. bis zum Auftreten eines Niederschlages) stehen. Sodann erhitzt man auf 70°–80° C, versetzt mit kleinen Anteilen Kaliumoxalatlösung und gibt noch 3–10 μ l mehr davon hinzu, je nach Menge des zu erwartenden Ca und Mg. Man erhitzt 5 min auf dem Wasserbad, zentrifugiert, wäscht den Niederschlag 2 mal mit Wasser und kann nun die vorhandene Menge *Ca* abschätzen durch Vergleich mit einer bekannten Menge CaC_2O_4 . Danach löst man den Niederschlag in 10 μ l 16 m Salpetersäure, dampft im Platintiegel ein, nimmt mit 30 μ l 70–72%iger Perchlorsäure auf und dampft wieder ein. Mit der Lösung des Rückstandes in wenig Wasser führt man den oben beschriebenen Mikrokristallnachweis auf *Ca* durch. Das Zentrifugat vom Oxalatniederschlag versetzt man mit 5 μ l 15 m Ammoniaklösung und 25 μ l 0,3 m Na_2HPO_4 -Lösung, kühlt und läßt 30 min unter häufigem Umschütteln stehen. Nach dem Zentrifugieren kann man die mengenmäßige Abschätzung des *Mg* durch Vergleich mit einer bekannten Menge $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ durchführen. Schließlich wäscht man den Niederschlag einmal mit 95%igem Äthanol und löst ihn in genügend 6 m Essigsäure, um eine Konzentration von etwa 5 μg *Mg*/ μ l zu erhalten. Die Lösung (oder einen Teil davon) bringt man auf einen Objektträger, behandelt mit Ammoniakdämpfen und beobachtet unter dem Mikroskop die bekannten Kristallformen des $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ als Nachweis für *Mg*.

F. SCHÄRTL

E. PUNGOR und A. HEGEDÜS² berichten über ergänzende Untersuchungen zur *flammenphotometrischen Mikrobestimmung von Calcium, Strontium und Barium nebeneinander*, um eine Erklärung für den früher³ mitgeteilten Befund, wonach bei verringerter Spaltbreite Calcium und Strontium die Bestimmung von Barium nicht stören, zu finden. Die Tatsache, daß die Störung von der Spaltbreite abhängig ist, weist dahin, daß nicht die in der Flamme verlaufenden Reaktionen, sondern die Spektren der Erdalkalimetalle bei größeren Wellenlängen die Ursache sind. Eine Aufnahme der Emissionsspektren zwischen 670 und 930 μ m gab den Beweis, daß die Störung eine Folge der Additivität ihrer Emissionen ist. Diese Störung eliminieren Verff. in der Weise, daß sie bei größerer Spaltbreite (0,5 mm) die Emission bei zwei verschiedenen Wellenlängen messen und auf Grund der angegebenen Ableitung den wahren Wert berechnen. Die Ergebnisse sind dann genauer, als bei Messungen mit kleiner Spaltbreite.

J. PLANK

¹ NOYES, A. A., and W. C. BRAY: A System of Qualitative Analysis for the Rare Elements, Macmillan, New York 1927.

² Magyar Kémiai Folyóirat 61, 308–312 (1955) [Ungarisch]. (Mit dtsh. Zus.-fass.) Univ. Budapest.

³ HEGEDÜS, A., T. MILLNER u. E. PUNGOR: Magyar Kémiai Folyóirat 59, 304 (1953); vgl. diese Z. 145, 204 (1955).

Für die Bariumfällung als Carbonat fand H. TEICHER¹ als günstigste Bedingungen die Fällung aus schwach ammoniakalischer Lösung durch Einleiten von CO₂, Zusatz von Alkohol nach der Fällung und Waschen des leicht filtrierbaren Niederschlages mit mindestens 50%igem Alkohol. Der Verlust durch Löslichkeit beträgt 0,00015 g Ba in 375 ml Lösung. Ammoniumsalze erhöhen die Verluste durch Löslichkeit. — *Arbeitsweise.* Man versetzt 200 ml der Bariumnitratlösung mit 10 ml konz. NH₃-Lösung und leitet 30 min lang CO₂ durch die Lösung, wobei man zum Aufrechterhalten der alkalischen Reaktion (etwa pH 9,1) nach 10 und nach 20 min je 3 ml konz. NH₃-Lösung zufügt. Nach 30 min versetzt man mit weiteren 10 ml NH₃-Lösung, ferner mit 50 ml Äthanol, filtriert nach weiteren 10 min und wäscht 4 mal mit je 25 ml 90%igem Äthylalkohol.

A. KURTENACKER

Die Trennung von RaD, RaE und RaF durch Ionenaustausch beschreibt T. ISHIMORI². Es wird gezeigt, daß sich die drei Aktivitäten nach vorausgegangener Adsorption an einer Säule von Amberlite XE—98 in folgender Weise trennen lassen: Die Elution mit 3 n Salzsäure löst nur RaD; RaE und RaF bleiben auf der Säule. RaE läßt sich anschließend mit 6 n oder konz. Salzsäure auswaschen, während für die Elution von RaF 6 n Salpeter- oder verd. Perchlorsäure (1:1) notwendig ist. Die Elutionskurven werden mitgeteilt.

F. WEIGEL

Bor. Eine Abtrennung von Spuren von Bor gelingt nach J. COURSIER, J. HURÉ und R. PLATZER³ durch Extraktion des Tetraphenylarsoniumfluoroborats mit Chloroform. Anschließend wird das Bor colorimetrisch nach T. PHILIPSON⁴ mit Curcumin bestimmt. — *Ausführung.* 5 ml Lösung mit 0,05—1 µg Bor, (pH < 3,2) und einer F-Ionenkonzentration von mindestens 0,8 m (0,4 m HF und 0,4 m NaF oder 0,8 m NH₄HF₂) läßt man in einem Polyäthylenbecher zunächst 18 Std stehen, fügt dann 5 ml einer 0,01 m Lösung von Tetraphenylarsoniumchlorid in Chloroform hinzu, rührt 30 min und zentrifugiert. Nachdem man die wäßrige Phase abpipettiert hat, gibt man 5 ml Wasser hinzu, trennt wieder ab, schüttelt mit 5 ml Wasser durch, zentrifugiert und entfernt den wäßrigen Anteil wieder. Schütteln mit Wasser und zentrifugieren wiederholt man noch einmal, gibt dann zur Chloroformlösung in einem Platintiegel 15 Tropfen 0,1 n Natronlauge und 1 Tropfen einer 0,1%igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung, dampft ein, nimmt den Rückstand mit 1 ml 1 n Trichloressigsäurelösung auf, fügt nach 10 min 1 ml Äthanol hinzu und mischt. Dann versetzt man mit 1 ml einer 0,125%igen alkoholischen Lösung von Curcumin, erhitzt 60 ± 3 min auf 106 ± 1° C, verdünnt mit Alkohol auf 25 ml und mißt die Farbintensität bei 5400 Å in einer 1 cm-Zelle.

G. DENK

Gallium. In Lösungen von pH 2 bis 3 wird die polarographische Stufe des Galliums bei —1,1 V (gemessen gegen die gesättigte Kalomelelektrode) durch die Wasserstoffstufe (—1,58 V) gestört, außerdem ändert sich die Intensität des Diffusionsstroms merklich mit dem pH-Wert⁵. J. SZONNAGH⁶ führte deshalb Versuche bei höheren pH-Werten durch und stellte fest, daß der Grenzstrom von Ga³⁺ bei pH 5,45

¹ Analyt. Chemistry **27**, 1416—1418 (1955). Monsanto Chemical Co., Miamisburg, Ohio (USA).

² Bull. chem. Soc. Japan **28**, 432—435 (1955). St. Paul's Univ. Tokyo (Japan).

³ Anal. chim. Acta (Amsterdam) **13**, 379—386 (1955). Commissariat à l'Énergie Atomique, Saclay (Frankreich).

⁴ Lantbrukshögskolans Ann. **12**, 251 (1944/45).

⁵ ZELTZER, S.: Coll. czechoslov. chem. Commun. **4**, 319 (1932); G. E. CHALLENGER, Thesis of Doctor of Philosophy, Harvard University, 1945.

⁶ Magyar Kémiai Folyóirat **61**, 257—258 (1955) [Ungarisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Techn. Univ. Veszprém (Ungarn).

auf einer ziemlichen Strecke konstant ist und durch die Wasserstoffwelle nicht gestört wird. Die Messung des Diffusionsstromes bei verschiedenen p_H -Werten zeigte bei p_H 5,35 bis 6,35 Konstanz, die Bestimmung ist deshalb in diesem Intervall ausführbar und die Ergebnisse streuen bloß bis 10%. Zur Einstellung des Säuregrades eignet sich Bromkresolpurpur. Nachteilig ist, daß die Empfindlichkeit so auf $1/5$ sinkt und die vorbereiteten Lösungen binnen 2 Std verarbeitet werden müssen, weil dann Hydrolyse eintritt. Die Konzentration der verwendeten Lösungen betrug $5 \cdot 10^{-4}$ mol GaCl_3 ; sie enthielten neben etwa 0,5 mol KCl auch ein wenig Gelatine zur Unterdrückung der Maxima.

J. PLANK

Eine photometrische Methode der Galliumbestimmung durch Extraktion als Rhodamin B-Chlorogallat mit Benzol aus 6 m salzsaurer Lösung beschreiben H. ONISHI und E. B. SANDELL¹. Die Störung von Eisen(III) wird umgangen durch Extraktion des Galliums aus salzsaurer, Titan(III)-chlorid enthaltenden Lösungen mit Isopropyläther. Aluminium, Indium, Zink, Antimon, Thallium, Wolfram, Zinn(II), Gold(III), Quecksilber(II), Germanium(IV), Vanadin, Molybdän, Kupfer, Nickel, Arsen(III) und HPO_4^{--} stören nicht. 2–10 μg Ga können unter den Bedingungen der Arbeitsvorschrift auf etwa 0,05 μg genau bestimmt werden. Durch fluorimetrische Messung kann die Empfindlichkeit der Methode noch erhöht werden². — *Ausführung.* 5–10 ml der Probelösung, die 0,5–10 μg Gallium enthalten sollen, macht man 7 n salzsauer, gibt 2 ml 20% iger galliumfreier Titan(III)-chloridlösung (bei Anwesenheit von über 100 mg Eisen(III) entsprechend mehr), zu und schüttelt nach 5 min 20–30 sec lang in einem Scheidetrichter mit 8–10 ml Isopropyläther. Die wäßrige Phase wird in einem anderen Scheidetrichter nach Versetzen mit Salzsäure (1:1) mit 5 ml Isopropyläther extrahiert. Man vereinigt die Ätherextrakte, spült den zweiten Scheidetrichter noch mit 1 ml Äther aus, verwirft die wäßrige, saure Phase, schüttelt die vereinigten ätherischen Phasen mit 1 ml 7 n Salzsäure und 0,5 ml der Titan(III)-chloridlösung, wiederholt die letztgenannte Operation, schüttelt nochmals mit 1 ml 7 n Salzsäure, verwirft die wäßrigen Extrakte und läßt in ein 50 ml-Becherglas ab. Man spült den Trichter noch mit 1 ml Äther aus, fügt 0,3 ml 10% iger Kochsalzlösung zu, dampft im bedeckten Becherglas den Äther ab, löst nach dem Abkühlen in genau 5 ml 6 n Salzsäure, bringt so vollständig als möglich in einen trockenen Scheidetrichter, fügt 0,4 ml Rhodamin B-Lösung (0,5 g in 100 ml Salzsäure 1:1) und 0,1 ml 10% ige Hydroxylaminhydrochloridlösung zu. Man schüttelt 1 min mit 5 oder 10 ml Benzol und colorimetriert nach Abtrennung der wäßrigen Phase die organische Phase bei 565 $m\mu$. Den Galliumgehalt entnimmt man einer unter den genau gleichen Bedingungen hergestellten Eichkurve.

K. BRODERSEN

Für die komplexometrische Titration von Indium eignet sich nach K. L. CHENG³ 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol als Indicator⁴. Je nach Art der anwesenden Fremdmetalle titriert man bei unterschiedlichen p_H -Werten. Bei p_H 2,3 bis 2,5 wirken Alkali-, Erdalkalimetalle, Al und Mn nicht störend. Schwere Metalle, die beständige Cyan Komplexe bilden (z. B. Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Ag, Hg), werden durch Alkalicyanid maskiert. Man titriert in diesen Fällen bei p_H 7 bis 8. Störungen durch Eisen(III) werden ebenfalls bei p_H 7 bis 8 durch Zugabe von 1 g Seignettesalz und 1 g Kalium-

¹ Anal. chim. Acta (Amsterdam) **13**, 159–164 (1955). Univ. Minneapolis, Minnesota (USA).

² ONISHI, H.: Analyt. Chemistry **27**, 832 (1955); vgl. diese Z. **149**, 154 (1956).

³ Analyt. Chemistry **27**, 1582–1583 (1955). Univ. Storrs, Conn. (USA).

⁴ Weitere Anwendungen des Indicators siehe K. L. CHENG und R. H. BRAY, Analyt. Chemistry **27**, 782 (1955); vgl. diese Z. **149**, 138 (1956).

fluorid beseitigt. Die Anionen Chlorid, Sulfat, Nitrat, Perchlorat, Fluorid, Tartrat, Citrat stören nicht. Bi, Pb, Ga, Sn müssen abwesend sein. Im Anschluß an den Trennungsgang von D. JENTZSCH, I. FROTSCHER, G. SCHWERTFFEGER und G. SARFERT¹ ist das Verfahren in allen Fällen zur Indiumbestimmung geeignet. — *Titration bei pH 2,3 bis 2,5.* Die 0,05 bis 0,2 Millimole In enthaltende Lösung wird auf etwa 50 ml verdünnt und mit 1 n Natronlauge neutralisiert, bis ein geringer Niederschlag entsteht. Zu seiner Auflösung setzt man 2 ml Eisessig zu, versetzt mit 2 Tr. der 0,01%igen Lösung des Indicators in Methanol und titriert mit 0,01 m Komplexon III-lösung bis zum sehr scharfen Farbumschlag von Rot nach rein Gelb. — *Titration bei pH 7 bis 8.* Die auf 50 ml verdünnte, 0,05 bis 0,2 Millimole Indium enthaltende Lösung wird mit der zur Bindung der schweren Metalle ausreichenden Menge Kaliumcyanid sowie mit 1 g Seignettesalz versetzt. Dann bringt man mit Essigsäure-Ammoniumacetat auf pH 7 bis 8, fügt 2 Tr. Indicatorlösung zu und titriert wie oben. — 1 Atom Indium bindet 1 Mol Komplexon. Die Analysenfehler betragen etwa $\pm 0,5\%$ oder weniger. A. KURTENACKER

Thallium. Nach Untersuchungen von V. SIMON² kann *Thallium(I)* in stark salzsaurer Lösung sehr scharf mit *Periodatlösung* titriert werden, entsprechend der Reaktionsgleichung: $3 \text{ Tl}^+ + \text{JO}_4^- + 8 \text{ H}^+ + \text{Cl}^- = 3 \text{ Tl}^{3+} + \text{JCl} + 4 \text{ H}_2\text{O}$. Man titriert potentiometrisch unter Verwendung von Platin-Kalomelektroden. Die Potentialeinstellung erfolgt schon bei Raumtemperatur augenblicklich. Selbst in 0,001 n Lösungen ergibt sich ein großer Potentialsprung im Äquivalenzpunkt. Die zu titrierende Lösung soll 28—37% HCl enthalten, das Titrationsvolumen soll für 0,1 n oder 0,01 n Lösungen 100—150 ml, für 0,001 n Lösungen 20—25 ml betragen. Thalliummengen von 50 bis etwa 8 mg können auf $\pm 0,1$ bis 0,2% genau bestimmt werden, bei kleineren Mengen steigen die Fehler und erreichen bei der Bestimmung von 20 μg Tl etwa 6%. A. KURTENACKER

Über den Nachweis des Thalliums und Quecksilbers durch Fluorescenz berichtet K. P. STOLJAROV³. *Thallium* photoluminesciert am stärksten bei Einführung des Tl-Ions in eine Lösung von Ammoniumjodid. Mit steigender Konzentration von Tl verschiebt sich das Photoluminescenzmaximum in das Gebiet längerer Wellen. Zu einem Tropfen der Prüflösung wird ein Tropfen 0,5 n NH_4J -Lösung zugegeben und zwecks langsamer Kristallisation bei gemäßigter Temperatur eingedampft. Im Dunkelfeld eines UV-durchlässigen Mikroskops luminesciert die Mitte gelb oder türkisblau (bei geringen Tl-Mengen — die Ränder). Die geringste nachweisbare Menge beträgt 0,00012 μg Tl; in Gegenwart von 10^6 Teilen Cd, 10^4 Zn oder Ni sind 0,012 μg Tl nachweisbar. — *Quecksilber.* Die Quecksilberhalogenide bedürfen keines Alkalihalogenidgitters. 1. Hg_2Cl_2 fluoresciert nicht, wenn die Lösung zu seiner Darstellung NO_2 enthielt, HgNO_3 muß daher umkristallisiert werden. Man beobachtet 1 Tropfen Prüflösung nach Zusatz von 1 Tropfen konz. Salzsäure im Dunkelfeld. Die orangefarbene Fluorescenz tritt ab 0,005 μg Hg auf bei Verdünnung 1 : 200 000. 0,1 μg Hg ist noch nachzuweisen im Beisein von 2000 Teilen Cu^{2+} 2100 Bi^{3+} , 1600 Pb^{2+} , 40 Ag^+ , 2600 Sn^{2+} , 700 Sb^{3+} . Hg^{2+} wird zunächst mit SnCl_2 oder Ascorbinsäure reduziert und mit Salzsäure nachgewaschen. Man kann auch die Absorption der ultravioletten Strahlen bei der Bildung von HgCl_2 zur Messung benutzen, wobei in den Gang der ultravioletten Strahlen ein Ultrafilter vorzuschalten ist. Der Versuchsgang ist derselbe. Der (in Gegenwart von Hg rote) Niederschlag ermöglicht in diesem Falle den Nachweis von 0,006 μg Hg sowie von 0,1 μg Hg in Gegenwart von

¹ Diese Z. 144, 8 (1956).

² Chem. Listy 49, 1727—1728 (1955). Univ. Prag.

³ Ž. anal. Chim. 10, 293—298 (1955) [Russisch]. Ždanov-Univ. Leningrad.

1500 Teilen Cu^{2+} , 1500 Bi^{3+} , 300 Pb^{2+} , 40 Ag^+ , 1700 Sn^{2+} , 400 Sb^{3+} . 2. Hg_2Br_2 . 1 Tropfen Prüflösung wird eingedampft und mit 1 Tropfen 5%iger KBr-Lösung überdeckt. Die rotorange Fluoreszenz ermöglicht den Nachweis von 0,004 μg Hg bei maximaler Verdünnung von 1 : 250 000. 0,1 μg Hg sind in Gegenwart von 100 Teilen Ag^+ , 1200 Pb^{2+} oder 400 Bi^{3+} noch nachweisbar. Bei Messen der ultravioletten Absorption beträgt das nachweisbare Minimum 0,005 μg Hg, die maximale Verdünnung 1 : 200 000; 0,1 μg Hg_2^{2+} sind noch neben 90 Teilen Ag^+ , 900 Pb^{2+} und 300 Bi^{3+} nachzuweisen. 3. *Quecksilberborat*. Ein Tropfen der Prüflösung wird mit einigen Boraxkörnern versetzt und umgerührt. 0,4 μg Hg (Verdünnung 1 : 7500) sind durch leuchtend grüne Fluoreszenz gerade noch nachzuweisen. Obgleich Hg_2Cl_2 in Gegenwart der häufigsten Anionen und Kationen die Erscheinung der Photolumineszenz zeigt, stören dennoch Fe^{3+} Bi und Pb, wenn es um die Absorption der ultravioletten Strahlen als Nachweis für Hg geht. Man wäscht Hg_2Cl_2 mit konz. Salzsäure (zum Entfernen des Fe) oder Hg_2Br_2 mit KBr (um Bi als K_3BiBr_6 zu entfernen); nur Pb (absorbiert im Ultraviolett!) bleibt für den Hg-Nachweis störend. A. v. WILPERT

Eine photometrische Methode zur Bestimmung von Scandium mit Alizarinrot S wird von A. R. EBERLE und M. W. LERNER¹ beschrieben. Voraussetzung ist die stufenweise Isolierung des Elements durch kombinierte Extraktionen und Fällungen. *Verfahren*. Zu 100 ml einer an Salzsäure oder besser Schwefelsäure 10% igen Lösung (frei von Nitrat und Fluorid) mit 10—120 μg Sc_2O_3 gibt man erst 10 und danach 5 ml 6% ige wäßrige Kupferronlösung und schüttelt jeweils mehrfach mit 25 ml CHCl_3 aus. Dieser Schritt ist zur Entfernung von Zirkonium, das später die Tributylphosphat (TBP)-Extraktion stört, notwendig. Mitextrahiert werden Fe, Ti, V, Hf, Ga, Sn, Mo, Sb und Bi. Darauf wird auf 300 ml verdünnt, gelöstes CHCl_3 verkocht und (gegebenenfalls nach Zusatz von 200 mg Aluminiumnitrat) mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht. Die Hydroxyde werden nach Zugabe von Filterpapierschleim auf einer Glasfritte gesammelt und wieder in 100 ml warmer 20% iger Salpetersäure gelöst. War die Ausgangslösung salzsauer, so muß umgefällt werden (chlorfrei!). Zur salpetersauren Lösung gibt man 2 ml 2,5% ige Hg^{I} -nitratlösung (in 20% iger Salpetersäure), 75 ml einer gesättigten KJO_3 -Lösung in 10% iger Salpetersäure, rührt 15 min, filtriert durch eine Glasfritte und wäscht mit 25 ml der gesättigten KJO_3 -Lösung nach. Hierdurch wird das Th abgetrennt, was in den nachfolgenden Schritten sonst nicht mehr gelingt. Hg dient als Träger. Das Filtrat wird auf 300 ml verdünnt, bei 80° C mit Ammoniak erneut gefällt und wie oben filtriert. Die Hydroxyde löst man in 25 ml konz. Salzsäure (A) und wäscht die Fritte mit 25 ml konz. Salzsäure (B) nach. Lösung (B) wird getrennt aufbewahrt. Die bisherige Arbeit ist nur dann erforderlich, wenn das Ausgangsmaterial Zr und Th enthält. Zur Lösung (A) fügt man 0,5 ml Perhydrol und trennt durch $\frac{1}{2}$ minutiges Schütteln mit 25 ml TBP (Verteilungskoeffizient von Scandium in 10,5 n HCl > 1000, mit ^{46}Sc gemessen) alle übrigen Elemente ausser U (und Fe) ab, besonders Al, Be, Cr und die Seltenen Erden. Das H_2O_2 verhindert die Extraktion von Ti und Ce durch Bildung von Ce^{III} . Man wäscht die organische Phase mit Lösung (B) und darauf mit weiteren Anteilen Salzsäure. Das Sc wird mit 70 ml Wasser zurückgeschüttelt und gelöstes TBP mit Äther extrahiert [+]. Zur Abtrennung des Urans und anderer Verunreinigungen wird Sc mit Ammoniumtartrat (AT) und Yttrium als Träger gefällt. Al, Fe, und Uran bis zu 10 mg beeinflussen die Fällung nicht. Man gibt 5 ml Y-Lösung (1 g Y_2O_3 in 10 ml konz. Salzsäure lösen und auf 200 ml verdünnen), 25 ml 40% ige AT-Lösung (100 g AT in 200 ml 10% igem Ammoniak lösen und auf 250 ml verdünnen), unter Rühren langsam konz. Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion

¹ Analyt. Chemistry 27, 1551—1554 (1955). Atomic Energy Commiss., New Brunswick, N. J. (USA).

+ 5 ml Überschuß zu und erhitzt kurz. Man filtriert durch eine Glasfritte, wäscht mit 25 ml At.-Lösung (1 + 4) und wiederholt die Fällung nach dem Lösen des Niederschlages in 50 ml 20%iger Salzsäure mehrfach in gleicher Weise. Mit den gereinigten Tartraten verfärbt man nun genau, wie bei der Aufstellung der Eichkurve. Man löst die Fällung in 25 ml konz. Salzsäure, wäscht die Fritte mit 25 ml konz. Salzsäure nach und wiederholt zur Abtrennung des Yttriums die TBP-Extraktion wie oben beschrieben (bis [+]). Man fügt 8 ml konz. Ammoniak zu, rührt zur Vertreibung des gelösten Äthers und versetzt mit 2 ml 0,1%iger, wäBriger Alizarinrot S-Lösung. Darauf wird sorgfältig mit konz. Ammoniak bis zum Endpunkt (Rotfärbung) titriert. Dazu gibt man 5 ml 20%igen Ammoniumacetatpuffer (100 g in 300 ml H₂O lösen, mit konz. Salzsäure auf pH 3,5 einstellen und auf 500 ml verdünnen), läßt abkühlen und bringt genau auf 100 ml. Gemessen wird die Absorption der Lösung bei 520 m μ mit dem Beckman DU-Gerät, Spaltbreite 0,04 mm und 5 cm-Corexglasküvetten gegen eine gleichbehandelte Lösung (mit Y, ohne Sc). Das BEERSche Gesetz ist im Bereich 10—120 μ g Sc₂O₃/100 ml erfüllt. In Tabellen zusammengefaßte Ergebnisse an synthetischen Lösungen zeigen, daß Sc in einer Vielzahl von Materialien (z. B. auch Beryll und Rutil) mit einer Genauigkeit von $\pm$ 5% bestimmt werden kann.

H. SPECKER

Seltene Erden. Nach G. BRUNISHOLZ¹ können die Seltenen Erden durch *Kristallisation ihrer Komplexsalze mit Äthylendiamintetraessigsäure* getrennt werden. Insgesamt wurden 7 Hydrate der Formel NH₄[RY] · xH₂O nachgewiesen, wobei Pr, Nd und Sm bei 0° C bevorzugt in der α -Phase NH₄[RY] · 8 H₂O kristallisieren, La₂O₃ dagegen in der β -Phase. Ausgehend von 100 g Oxydgemisch (La₂O₃, Pr₂O₃, Nd₂O₃ und Sm₂O₃) wird eine präparative Trennung in die α - und β -Phase mit 25 bzw. 80% La₂O₃ beschrieben. Man führt die Oxyde zunächst in die Chloride über, löst diese in 300 ml Wasser, versetzt mit einem Überschuß von (NH₄)₄Y und gibt bei pH 7 noch 50 g Ammoniumchlorid hinzu. Nach dem Verdünnen auf 750 ml kühlt man auf 0° C, impft mit α -Phase, schüttelt 1—2 Std, läßt noch 3 Std in Eis stehen, filtriert und wäscht 2 mal mit 70%igem und 2 mal mit abs. Alkohol. Aus dem Filtrat kristallisiert nach dem Impfen mit der β -Phase ebenfalls bei 0° C nach 3—5 Std bevorzugt Lanthan aus. Das Filtrat kann in einem Kreisverfahren nach Zugabe von 65 g R₂O₃ wieder ebenso behandelt werden.

G. DENK

Die Absorptionsspektren der Seltenen Erden wurden von L. HOLLECK und L. HARTINGER² spektralphotometrisch aufgenommen und die molaren Extinktionskoeffizienten zum Teil erstmalig bestimmt, zum Teil neu vermessen. Verwendet wurde das Unicam-Spektralphotometer, Typ SP 500, mit Wasserstofflampe und Wolframlampe, 1 cm-Quarzküvetten bei Spaltbreiten zwischen 0,04 und 0,2 mm. Im einzelnen wurden die Chloride von Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm und Yb vermessen (Spektren im Original). Die Werte für die molaren Extinktionskoeffizienten liegen zwischen 10,5 für Pr (4440 Å) und 0,33 beim Tb (3694 Å), das nur sehr schwache Absorption aufweist. Der Vergleich mit Literaturwerten (Tabelle) zeigt zum Teil beträchtliche Abweichungen. Weiter sind angegeben die obere Konzentrationsgrenze, bei der das LAMBERT-BEERSche Gesetz für die jeweilige Bande noch gültig ist (zwischen etwa 0,6 und 0,07 Mol/l), die untere Nachweisgrenze für die einzelnen Elemente und die jeweils störenden Banden. Für die analytische Verwendbarkeit ist eine Trennung der Proben wenigstens in Cerit- und Yttererden wünschenswert. Weitere Einzelheiten sind im Original nachzulesen. Den Analysenfehler schätzen Verff. auf 1—2%, je nach Anzahl der anwesenden Elemente.

H. SPECKER

¹ Helv. chim. Acta 38, 1654—1657 (1955). Univ. Lausanne (Schweiz).

² Angew. Chem. 67, 648—651 (1955). Phil.-theol. Hochschule Bamberg.

Nach N. HOFMAN-BANG und I. WULFF¹ lassen sich *Cer(III)*-Ionen mit *Kobalt(III)*-Ionen zu *Cer(IV)*-Ionen oxydieren. Die Werte der normalen Oxydationspotentiale von $\text{Ce(III)/Ce(IV)} = 1,5$ Volt und von $\text{CoII/CoIII} = 1,8$ Volt lassen die Reaktion möglich erscheinen. Zur Herstellung einer *Kobalt(III)*-Lösung löst man 0,01 Mol *Kobalt(II)*-nitrat in 250 ml Wasser, fügt 75 g Natriumhydrogencarbonat und nach einigen Minuten Schütteln 250 ml Wasser, die 2 ml 30%iges Wasserstoffperoxyd enthalten, zu und verdünnt auf 1 Liter. Erst beim letzten Verdünnen geht alles Hydrogencarbonat in Lösung. Der Wasserstoffperoxydüberschuß wird schon nach einigen Minuten Stehen durch die katalytische Wirksamkeit der *Kobalt(III)*-Ionen [wahrscheinlich $(\text{Co}(\text{CO}_3)_3)^{3-}$] zerstört. Den Gehalt der Lösung ermittelt man folgendermaßen: 50 ml der grünen, wie oben hergestellten *Kobalt(III)*-Lösung fügt man zu einer Lösung von 2 g Kaliumjodid in 30 ml 2 m Schwefelsäure und titriert das ausgeschiedene Jod mit Thiosulfatlösung zurück. — Die *Kobalt(III)*-Lösung stellt eines der stärksten Oxydationsmittel dar, welches nicht nur *Cer(III)* zu *Cer(IV)* sondern auch CrIII zu CrO_4^{2-} oxydiert. Zur *Cer*-Bestimmung versetzt man mit einem Überschuß an *Kobalt(III)*-Lösung, wobei *Cer(III)* augenblicklich oxydiert wird, kocht zur Zerstörung des *Kobalt(III)*-Ions und titriert *Cer(IV)* mit Wasserstoffperoxydlösung. K. BRODERSEN

Germanium. Y. OKA und SH. MATSUO² empfehlen zur Bestimmung des Germaniums die Messung der Farbintensität des mit Quercetin gebildeten gelbgrünen Komplexes. Zum Unterschied von anderen zur Germaniumbestimmung herangezogenen Komplexen (z. B. mit Phenylfluoron oder Hämatoxylin), die fast unlöslich sind, löst sich der Quercetinkomplex gut in 40%igem Methylalkohol. Die Lösung besitzt bei 410 m μ ein scharfes Absorptionsmaximum. Die größte Farbintensität entwickelt sich im pH-Bereich 6,4—7,1. Für die Bestimmung verwendet man am besten den pH-Bereich 6,4—6,8 und arbeitet in $1,5 \cdot 10^{-2}$ m Diammoniumphosphatlösung als Puffer. Die Farbe der Komplexlösung ist 5 Std beständig. Die Reagenskonzentration soll etwa $1,6 \cdot 10^{-4}$ Mole/l (48 $\mu\text{g/ml}$) für Ge-Mengen bis zu 0,54 $\mu\text{g/ml}$ betragen. Bis zu dieser Germaniumkonzentration ist die Eichkurve eine Gerade. Von fremden Ionen wird Ge am besten durch Destillation aus salzsaurer Lösung getrennt. Hält man dabei die Temperatur unter 107° C, so gehen nur Arsen(III) und kleine Teile von Selen mit Germanium in das Destillat. Selbst 500 $\mu\text{g As/ml}$ oder 29,5 $\mu\text{g Se/ml}$ beeinträchtigen aber die Bestimmung von 0,45 $\mu\text{g/ml}$ Ge nicht. (Von 712 mg Se als Selenit oder Selenat konnten maximal 35 μg im Destillat wiedergefunden werden.) Störend wirken die großen Mengen Salzsäure im Destillat, weil beim Neutralisieren der Lösung mit Ammoniak große Mengen NH_4Cl aus der 40%igen Methylalkohollösung ausfallen. Zur Entfernung der Salzsäure benutzt man die Mitfällung des Germaniums mit Eisen(III)-hydroxyd. Die Trennung von Eisen erfolgt dann mit Hilfe eines Ionenaustauscherharzes. — *Ausführung.* Man verdünnt einen passenden aliquoten Teil des salzsauren Filtrates auf 100 ml, versetzt mit 20—30 mg Eisen(III) (hinreichend für 110 $\mu\text{g Ge}$) und neutralisiert vorsichtig mit verdünntem Ammoniak unter Vermeidung eines großen Überschusses und unter schwacher Kühlung. Nach dem Filtrieren durch ein Glasfilter wäscht man mit 2%iger NH_4Cl -Lösung, löst dann den Niederschlag in 3 ml 1 n Salzsäure und gibt die Lösung auf eine Säule (105 $\times$ 11 mm) von Amberlite IR-120 in der H-Form. Germanium wird auf der Säule gar nicht zurückgehalten. Man verdünnt den Durchlauf auf 100 ml und bestimmt darin das Germanium wie angegeben photometrisch. Die kleinen Mengen Salzsäure stören dabei nicht.

¹ Acta chem. scand. (Kopenhagen) 9, 1230—1231 (1955). Techn. Univ. Kopenhagen.

² Sci. Rep. Res. Inst., Tôhoku Univ., Ser. A., 6, 597—604 (1954). Res. Inst. Min. Dressing and Metallurgy.

Zur Bestimmung von Germanium mit Phenylfluoron verändern Y. OKA und T. KANNO¹ die Vorschrift von H. J. CLULEY², indem sie den unlöslichen Ge-Phenylfluoronkomplex zur photometrischen Bestimmung nicht mit Gummi arabicum suspendieren, sondern einen Polyvinylalkohol vom Polymerisationsgrad 1600 verwenden. Die zur Photometrierung gelangende Lösung enthält dann auf je 50 ml Flüssigkeit 5 ml der 0,25%igen Lösung des Polyvinylalkohols. Der so suspendierte Niederschlag ist so fein verteilt, daß er mit unbewaffnetem Auge von einer echten Lösung nicht zu unterscheiden ist und selbst nach 5 Tagen noch keine merklichen Veränderungen zeigt. Die Lichtabsorption bei 500 und 505 m μ bleibt länger als 3 Std konstant, bei 510–530 m μ findet man in der gleichen Zeit einen leichten Anstieg der Absorption. Die Suspension mit Gummi arabicum zeigt dagegen starkes Absinken der Absorption, wobei auch die Qualität des Reagenses von Bedeutung ist. Für die mit Polyvinylalkohol suspendierten Flüssigkeiten gilt das LAMBERT-BEERSche Gesetz auch über 1 μ g/Ge/ml hinaus, so daß höhere Ge-Konzentrationen bestimmt werden können. H. KURTENACKER

Zum umstrittenen Polarogramm von Germanium(IV)³ geben GH. SAUVENIER u. G. DUYCKAERTS⁴ als Ergebnis systematischer Untersuchungen an: In 0,1 n Borsäure-Natronlauge-Pufferlösung von p_H 8,95 steigt die Stufenhöhe bei $E_{1/2} = -1,5$ V mit dem Gehalt der Lösung an Kaliumchlorid an. Der Effekt wird durch Gelatinezusatz (0,01%) eliminiert. Bei einem Gehalt von 5 n KCl und 0,01% Gelatine in der Pufferlösung sind Diffusionsstrom und Halbstufenpotential p_H-abhängig. Zwischen p_H 8 und 9 ist die Stufenhöhe konstant und der Konzentration linear proportional. Bei Ge-Gehalten zwischen $6 \cdot 10^{-5}$ und $6 \cdot 10^{-4}$ m liegt $E_{1/2}$ bei $-1,50$ bis $-1,52$ V. Die Stufenhöhe weist nur geringe Abhängigkeit von der Höhe der Quecksilbersäule auf, so daß ein nur kleiner kinetischer Stromanteil angezeigt ist. Die Diffusionsstromkonstante wird zu $6,82 \pm 0,04$, der Diffusionskoeffizient zu $0,79 \cdot 10^{-5}$ cm²/sec bestimmt. Es liegt eine 4-Elektronenreaktion, also die Reduktion zum Metall vor.

In 0,5 m Ammoniak-Ammoniumchlorid-Pufferlösung vom p_H 9,4 treten zwei Stufen auf, doch ist nur die Höhe der ersten bei $-1,56$ V der Konzentration proportional. Erste und zweite Stufe (bei $-1,75$ V) ändern Höhe und Lage mit dem p_H-Wert. Wird die Pufferkonzentration herabgesetzt, so verschwindet die zweite Stufe schließlich völlig. Nur die erste Stufe ist daher zur Germaniumbestimmung verwendbar.

In Borsäurepufferlösung können auch große Zink-Konzentrationen zugegen sein, wenn Zn komplex gebunden wird (Komplexon). Für 1,0–0,1% Ge in Zn liegt der Relativfehler bei 0,5 und 0,8%. K. CRUSE

Die coulometrische Bestimmung von Titan sowie von Titan und Eisen nebeneinander führen R. V. DILTS u. N. H. FURMAN⁵ mit Hilfe von elektrolytisch erzeugten Cer(IV)-Ionen durch⁶. Die Feststellung des Endpunktes erfolgt ampero-

¹ Sci. Rep. Res. Inst. Tōhoku Univ. Ser. A., 7, 396–401 (1955). Res. Inst. Mineral Dressing and Metallurgy.

² Analyst (London) 76, 523 (1951); vgl. diese Z. 143, 52 (1954).

³ Vgl. DAS GUPTA, A. K. u. C. K. NAIR, Anal. chim. Acta (Amsterdam) 9, 287 (1953); sowie P. VALENTA u. P. ZUMAN: Anal. chim. Acta (Amsterdam) 10, 591 (1954); vgl. diese Z. 144, 359, 360 (1955).

⁴ Anal. chim. Acta (Amsterdam) 13, 396–403 (1955). Univ. Lüttich (Belgien).

⁵ Analyt. Chemistry 27, 1596–1599 (1955). Univ. Princeton, N. Y. (USA).

⁶ FURMAN, N. H., W. D. COOKE und C. N. REILLEY: Analyt. Chemistry 23, 945 (1951); vgl. diese Z. 136, 128 (1952).

metrisch. Man läßt die Titansulfatlösung durch einen JONES-Reduktor in eine gesättigte Cer(III)-Lösung einfließen, wo dann in dem früher beschriebenen Apparat¹ die Oxydation durch die elektrolytisch erzeugten Cer(IV)-Ionen erfolgt (N_2 -Atmosphäre). Mengen von 50 μg bis 5 mg Ti können mit einer Genauigkeit von $\pm 0,6\%$ bestimmt werden. Die Bestimmung größerer Mengen ist wegen der Unlöslichkeit des Titansulfats in dem gegebenen Medium nicht möglich. Die Nebeneinanderbestimmung von Titan und Eisen in Mischungen beruht auf der Tatsache, daß die Redoxpotentiale der Systeme Ti^{III}/Ti^{IV} und Fe^{II}/Fe^{III} genügend weit auseinanderliegen, um nach entsprechender Potentialeinstellung den Endpunkt für die Titantitration und den für die Eisentitration nacheinander amperometrisch feststellen zu können. Die vorhandenen Mengen kann man dann aus dem Stromwert und der Zeit bis zum ersten und vom ersten bis zum zweiten Endpunkt errechnen. Bei der Nebeneinanderbestimmung ist es erforderlich, daß man die im JONES-Reduktor reduzierte Untersuchungslösung in eine Lösung fließen läßt, die mindestens 90% der dem vorhandenen Titan äquivalenten Menge an Cer(IV)-Ionen enthält, da man sonst fehlerhafte Werte erhält. Der ungefähre Titangehalt muß also vorher bekannt sein. 0,013—0,16 mval Ti lassen sich dann auf $\pm 0,6\%$ bestimmen. Für Eisen beträgt die Genauigkeit $\pm 0,8\%$ im Bereich von 0,06—0,12 mval. Die Genauigkeit für den Gesamtgehalt beläuft sich auf $\pm 0,66\%$.

K. BRODERSEN

Eine Methode zur Zirkoniumbestimmung mit Alizarinrot S, die die Vorteile der Differentialspektrophotometrie² ausnutzt, wird von D. L. MANNING und J. C. WHITE³ beschrieben. Bei der Differentialmethode wird der Nullpunkt der Absorptionsskala mit einer stark gefärbten oder lichtabsorbierenden Bezugslösung an Stelle einer Blindlösung festgelegt und die zu untersuchende höher konzentrierte Lösung gegen diesen Nullpunkt in üblicher Weise gemessen. Zur Nullpunkteinstellung erhält man das erforderliche Licht durch größere Spaltbreiten. Für Systeme, die bei vergrößertem Spalt dem BEERSchem Gesetz gehorchen, sind die gemessenen Extinktionen der Konzentrationsdifferenz von Bestimmungslösung und Nullpunktstandard (Bezugslösung) direkt proportional. Beim Arbeiten im pH-Bereich 0—2 erhält man für die Zirkoniumbestimmung gute Ergebnisse, höhere Säurekonzentration führt zu abnehmender Farbtintensität und niedrigere zur Hydrolyse. In diesem Anwendungsfall wird in 1 m perchlorsaurem Medium gearbeitet. Die Farbtintensität erreicht nach 30 min ihr Maximum und bleibt wenigstens 3 Std stabil. Gemessen wird bei 530 m μ . — *Reagentien.* 1. Zirkoniumstammlösung ($\sim 2,5$ mg/ml): Man erhitzt 9,3 g Zirkoniumnitrat mit 10 ml konz. Salpetersäure und 200 ml konz. Perchlorsäure 1 Std bis zum Rauchen, kühlt, verdünnt mit Wasser auf 500 ml und filtriert. Diese Lösung wird gravimetrisch bestimmt und daraus durch Verdünnen mit Wasser eine Standardlösung von 1 mg/ml hergestellt. Zwei weitere Lösungen mit 0,10 mg/ml und 0,05 mg/ml stellt man sich durch Verdünnen mit 1 m Perchlorsäurelösung aus der Standardlösung her. 2. Alizarinrot S-Lösung: 0,5 g Natriumalizarinsulfonat werden in etwa 80 ml Wasser gelöst, filtriert, mit Perchlorsäure auf pH 1 eingestellt und mit 0,1 m Perchlorsäurelösung auf 100 ml aufgefüllt. — *Zur Aufstellung der Eichkurve* füllt man in 25 ml-Kolben entsprechende Volumina der Standardlösungen, so daß sie 1,00—1,50 mg Zirkonium enthalten. Nach Verdünnen mit 1 m Perchlorsäurelösung auf etwa 15 ml fügt man 3 ml Alizarinrot S-Reagens und 5 ml Aceton (um Fällung des Farblackes zu vermeiden) hinzu und füllt nach Schütteln mit 1 m Perchlorsäure auf 25 ml auf. Nach 30 min werden die

¹ DILTS, R. V., and N. H. FURMAN: *Analyt. Chemistry* 27, 1275 (1955); vgl. diese Z. 150, 373 (1956).

² Vgl. diese Z. 146, 69 (1955) (unter MILNER u. PHENNAH).

³ *Analyt. Chemistry* 27, 1389—1392 (1955). Nation. Lab., Oak Ridge, Tenn. (USA).

Lösungen mit dem Spektralphotometer Beckman DU bei 530 m μ in 1 cm-Küvetten gemessen. Als Bezugslösung dient die Lösung mit 1 mg Zirkonium im Endvolumen von 25 ml. Fremdkationen (u. a. Na, K, Fe, Ni, Cr, U) mit Ausnahme von Al stören in 1 m Perchlorsäurelösung nicht. Anionen wie Fluorid, Sulfat und Phosphat stören. Das BEERSche Gesetz ist für den untersuchten Konzentrationsbereich von 40—65 μ g Zr/ml gültig. Bei der Bereitung der Standardlösungen bzw. der Bezugslösung muß größte Sorgfalt geübt werden.

H. SPECKER

Thorium. G. S. DESHMUKH und J. XAVIER¹ untersuchen die *Fällung und Bestimmung von Thorium mit Hilfe von organischen Basen*. Durch *o*-Tolidin, Dianisidin und *p*-Phenylendiamin werden Thorium, aber auch Cer und andere dreiwertige Seltene Erden gefällt. Dagegen können *o*-Phenetidin und *o*-Anisidin zur Fällung und Trennung des Thoriums von dreiwertigen Seltenen Erden wie Ce, La, Y und Er benutzt werden. Nach den mitgeteilten Beleganalysen ergeben sich bei Anwendung von 0,06—0,14 g ThO₂ Fehler von 0,1—0,4 mg. — *Arbeitsvorschrift.* Zu der Thoriumsalzlösung (Chlorid oder Nitrat), die unterschiedliche Mengen der genannten dreiwertigen Ionen enthält, gibt man das gleiche Volumen Alkohol und eine alkoholische Lösung von *o*-Phenetidin oder *o*-Anisidin. Der Niederschlag erscheint langsam und ist nach 20—30 min vollständig. Man läßt 6 Std stehen, filtriert durch Whatman Nr. 40-Filterpapier, wäscht erst mit kaltem Alkohol, dann wiederholt mit heißem 50%igen Alkohol, löst den Niederschlag in möglichst wenig 2 n Salzsäure, verdünnt auf 50 ml und wiederholt die Fällung. Nach dem Filtrieren und Waschen mit Alkohol trocknet man und verglüht zu ThO₂.

BARBARA GRÜTTNER

Über *potentiometrische Titrations von Thorium- und Cernitraten mit der Glaselektrode* berichten K. PAN und T. M. HSEU². Zum Studium der Komplexbildung von Thorium mit Oxalat-Ionen wurden Titrations von Thoriumnitratlösungen mit Natrium- oder Ammoniumoxalatlösungen durchgeführt. Es ergeben sich vier Potentialsprünge. Der erste scharfe Potentialsprung entspricht der vollständigen Fällung von Thoriumoxalat. Er liegt bei einem Molverhältnis von C₂O₄²⁻:Th = 1,9:1 und bei p_H 4,3. Die weiteren 3 Potentialsprünge stellen die Bildung von Thoriumoxalato-komplexen dar. Sie werden gefunden bei den p_H-Werten 3,4 und 5,4 bis 6,3. — Bei der potentiometrischen Titration einer Lösung, die Thorium und Cer nebeneinander enthält, mit Natronlauge zeigt die Titrationskurve nach vorheriger Reduktion des Cer zu Cer(III) 2 Potentialsprünge. Die Genauigkeit ist jedoch nicht groß genug, um die Bestimmung von Thorium und Cer nebeneinander ermöglichen zu können.

K. BRODERSEN

Thorium C (²¹²Bi) und Thorium B (²¹²Pb) lassen sich in Chloridlösung von einander und von Thoriumnitrat *elektrolytisch trennen*. A. D. R. HARRISON, A. J. LINDSEY und R. PHILLIPS³ geben hierzu folgende *Vorschrift* an: 1 g „radiometrisch altes“ Thoriumnitrattetrahydrat wird in 20—25 ml 0,5 m Salzsäure gelöst und mit einer bis zu 1 mg Bi bzw. Pb entsprechenden Menge Standardlösung der Nitrats als Trägersubstanz versetzt. Nach Erwärmen auf 80—90° C wird unter Rühren bei einem Kathodenpotential von etwa 250 mV gegen eine gesättigte Kalomelektrode elektrolysiert. Entscheidend für die Anwendung der Methode ist die Gestaltung der Kathode, die aus Nickel oder besser aus einer 0,5 mm starken Platinfolie von 14 mm Durchmesser besteht, die in Polyäthylen eingebettet ist, so daß nur eine

¹ Bull. chem. Soc. Japan 28, 233—234 (1955). Benaras, Hindu Univ. und Indian Assoc. Cult. Sci., Calcutta. (Indien).

² Bull. chem. Soc. Japan 28, 309—312 (1955). Univ. Taiwan (Japan).

³ Anal. chim. Acta (Amsterdam) 13, 459—464 (1955). Sir John Cass College, London (England).

Kreisoberfläche wirksam ist. Als Anode dient eine Platinspirale (6 cm 0,5 mm starker Draht in 6 Windungen). Am Ende der Elektrolyse nach etwa 25 min wird die Kathode unter Spannung entnommen, abgespült, mit Alkohol gespült, getrocknet und im GEIGER-Zähler untersucht. An einer zweiten Kathode kann anschließend mit etwa 250 Milliamp. auch Thorium B abgeschieden werden. — Wird im Zählrohr über eine längere Zeit gemessen, so kann das abgeschiedene Isotop aus der Halbwertszeit bestimmt und auf seine Reinheit geprüft werden. Bei zu hoch gewähltem Kathodenpotential werden beide Isotope gleichzeitig abgeschieden. Etwa vorhandenes und mitabgeschiedenes Thorium A (^{216}Po), das edler als Wismut ist, stört wegen der kurzen Halbwertszeit von 0,158 sec nicht. Aus der gemessenen Aktivität läßt sich berechnen, daß größenordnungsmäßig 10^{-15} g Thorium C abgeschieden werden, was mit der Gleichgewichtskonzentration in Thornitratlösung in bester Übereinstimmung steht.

K. CRUSE

IV. Spezielle analytische Methoden

4. Analyse von biologischem Material

Anwendungsbeispiele der Verteilungschromatographie in der Biochemie bespricht P. BOULANGER¹, wobei die eine flüssige Phase durch ein indifferentes Adsorptionsmittel festgehalten wird. Nach ausführlicher Behandlung der theoretischen Grundlagen wird die Identifizierung einer unbekannten Substanz aus Urin (Sarkosin), die Strukturbestimmung eines natürlichen Polypeptides (Vasopressin), die Verfolgung einer Stoffwechselreaktion und Ermittlung der hierbei auftretenden Produkte (oxydative Desaminierung) und die Trennung, Identifizierung und Bestimmung eines natürlichen Gemisches nahe verwandter Naturstoffe (Polyoside der Frauenmilch) beschrieben. Die umfangreiche Arbeit enthält zahlreiche Diagramme, Formulierungen und Photos.

K. SÖLLNER

Eine Literaturübersicht über das gesamte Gebiet der Verteilungschromatographie von Steroiden bringt E. HEFTMANN². Es werden alle Naturprodukte behandelt, die sich vom Perhydro-1,2-cyclopentanophenanthren ableiten. Der Verf. versucht, alle Literaturstellen bis Anfang 1955 zu erfassen, verzichtet aber auf eine kritische Sichtung. Er bringt in den 463 Zitaten nur Methoden der Verteilungschromatographie in der Säule und auf dem Papier. Bezüglich der Adsorptionsschichtchromatographie von Steroiden wird auf andere Monographien verwiesen.

H. PELZER

Über die Anwendung optischer Mikromethoden bei cytologisch-chemischen Untersuchungen berichtet R. BARER³. Verf. begründet zunächst die mangelnde Genauigkeit der *Mikroabsorptionsspektroskopie* im UV und behandelt anschließend die Methoden der *Mikrorefraktometrie* und *-interferometrie*, mit deren Hilfe u. a. die Bestimmung der *Trockenmasse*, des *Wassergehaltes* sowie der Konzentration an *festen Stoffen* in lebenden Zellen möglich ist. Schließlich wird noch die Spektrophotometrie von *Zellpigmenten* beschrieben. 34 Zitate.

F. SCHÄRTL

Elektrodenlose Leitfähigkeitsmessung an Seren. F. OEHME, W. GEBLER und G. ZIMMERMANN⁴ haben über Leitfähigkeitsmessungen an konfektionierten Serum-

¹ Chim. analytique 37, 227—240 (1955). Fac. Méd., Pharm., Lille (Frankreich).

² Chem. Reviews 55, 679—711 (1955). Dptm. Health, Educ., Welfare, Bethesda, Md.

³ Chim. analytique 37, 327—337 (1955). Univ. Oxford (England).

⁴ Pharmazie 10, 532—534 (1955). Forsch.-Inst. Impfstoffe, Dessau und Inst. Mikrobiol., exp. Therap., Jena.

proben berichtet, bei denen das elektrodenlose Meßverfahren mit Hochfrequenz auf in Ampullen befindliche Proben angewendet wird, wobei die Proben zur Messung einfach in Immersionszellen aus Condensa F (keramischer Baustoff hoher Dielektrizitätskonstante) eingesetzt werden. Bei einer Arbeitsfrequenz von 7 MHz liegt das Optimum der Meßempfindlichkeit bei dem verwendeten Verfahren zwischen 0,05 und 0,4% Salzgehalt in der Serumprobe, so daß das Verfahren besonders zur Bestimmung von Salzgehalten dieser Größenordnung bzw. zur Prüfung auf Restsalzgehalte von Serumproben nach der Dialyse und in der fertigen Verpackung (Ampulle) geeignet ist. K. CRUSE

Für die Bestimmung der gesamten Basen im Harn eignet sich nach J. C. VANATTA und R. M. LANDERS jr.¹ das von J. C. VANATTA und I. CUSHING² für die Untersuchung von Serum angegebene Verfahren. Die dort angeführten Reagensmengen sind zu vergrößern, wenn der Gesamtbasengehalt 300 mÄquiv. l übersteigt. — Bei Bestimmung der gesamten *nichtflüchtigen* Basen werden zunächst die reichlich vorhandenen Phosphate als Eisen(III)-phosphat entfernt. Man versetzt 5 ml der Harnprobe im 25 ml-Meßkolben mit 4 ml 4 n Schwefelsäure und 2 Tropfen Phenolrotindikator, bringt mit 8 n NH₄OH-Lösung auf pH 6–8 (Farbumschlag gelb-rot), fügt 8–9 ml 0,1 m Eisen(III)-ammoniumsulfatlösung zu und Ammoniak bis zur neuerlichen Rotfärbung, verdünnt zur Marke und zentrifugiert einen Teil der Flüssigkeit. 5 ml der klaren überstehenden Lösung werden mit 1 ml 4 n Schwefelsäure eingedampft, verascht und wie Serumasche² weiterbehandelt. H. CARLS

Zur Mikrobestimmung von Kalium in biologischem Material empfiehlt P. R. LEWIS³ die Fällung als Kaliumdipikrylaminat mit anschließender Colorimetrie des Dipikrylaminat-Ions. Das Verfahren wird durch Fremd-Ionen kaum gestört. 20–100 µg Kalium können auf $\pm 2\%$ genau erfaßt werden. — *Ausführung.* In einem 5 ml-Platintiegel trocknet man die Probe zunächst bei 105–110° C, glüht bei höchstens 550° C, nimmt mit 0,5 ml Wasser auf und verdampft anschließend im Quartziegel zur Trockne. Den Rückstand löst man in 2–3 Tropfen Wasser, fügt 1 Tropfen Reagenslösung (s. u.) zu, gibt nach 10 min noch 1 Tropfen, nach weiteren 10 min einen 3. Tropfen und schließlich einen 2fachen Überschuß (im ganzen bis zu 6 Tropfen) der Reagenslösung zu, läßt 2 Std bei 1–5° C, dann 1 Std bei 0 bis 1° C stehen, filtriert mit einem Filterstäbchen die überstehende Flüssigkeit ab, wäscht mit 4 Tropfen Eiswasser, löst in heißem Wasser zu einer Verdünnung von 30–70 µg Kalium je 100 ml und versetzt vorher noch mit so viel 0,1 n Natronlauge, daß nach dem Verdünnen die Konzentration an Natronlauge 0,001 n ist. Anschließend wird mit einem Blaufilter colorimetriert. Mit radioaktivem Kalium konnte Verf. zeigen, daß der Niederschlag nicht mit einer gesättigten Lösung der gleichen Substanz gewaschen werden muß. Diese Operation bringt keine Vorteile. — Statt die Lösung des Niederschlages zu colorimetrieren, kann man auch mit einer bekannten überschüssigen Menge Reagens fällen und die Extinktion der über dem Niederschlag stehenden klaren Lösung bestimmen. — *Herstellung des Reagens.* Man löst 1 g aus Eisessig umkristallisiertes Dipikrylamin in einer Lösung von 0,3 g Lithiumcarbonat in 100 ml Wasser unter schwachem Sieden. 1 µl dieser Lösung entspricht 1 µg Kalium. K. BRODERSEN

Zur Bestimmung von Magnesium im Serum und in anderen Körperflüssigkeiten überprüfen M. BÉCHNER und W. SCHÖNE⁴ einige bekannte Methoden. Während die

¹ J. biol. Chemistry 216, 351–355 (1955). Univ. Dallas, Texas (USA).

² J. biol. Chemistry 208, 195 (1954); vgl. diese Z. 145, 398 (1955)

³ Analyst (London) 80, 768–773 (1955). Physiol. Lab., Cambridge (England).

⁴ Pharmazie 10, 190–192 (1955). Stadtkrankenhaus Dresden-Friedrichsstadt.

colorimetrische Bestimmung mit Tropaeolin 00, die Titration des Oxychinolats und ebenso die Titration des Oxalats mit Permanganat¹ schwankende Werte lieferte, brachte die photometrische Messung der Phosphorsäure aus dem Magnesiumammoniumphosphat richtige Ergebnisse. Am geeignetsten erwies sich die *komplexometrische Titration* gegen Eriochromschwarz T als Indicator. Calcium, welches stört, wird als Oxalat entfernt, das überschüssige Ammoniumoxalat muß zerstört werden. — *Ausführung.* Zu 2 ml Serum gibt man 2 ml Wasser und 1 ml 2%ige Ammoniumoxalatlösung, fügt nach 1—2 Std noch 1 ml Wasser hinzu und zentrifugiert 15 min lang mit etwa 4000 U/min. Von der calciumfreien Lösung versetzt man 5 ml mit 1 ml konz. Schwefelsäure und 0,5 ml Perhydrol und erhitzt 15 min. Nach dem Erkalten verdünnt man mit 10 ml Wasser, kocht kurz auf, neutralisiert mit 1 n Ammoniak gegen Universalindicator bis p_H 6, bringt mit der Pufferlösung (1 Teil 1 n Ammoniak + 5 Teile 1 n Ammoniumchloridlösung) mindestens auf p_H 8 und titriert mit 0,01 m Kompleixonlösung bis zum Umschlag des Indicators (0,1 g Eriochromschwarz T + 10 g NaCl) nach Blau. — Die Durchführung einer Blindbestimmung wird empfohlen.

G. DENK

Calciumbestimmung in biologischem Material. E. Y. BERGER² empfiehlt die Fällung als Oxalat mit anschließender Oxydation durch Cer(IV)-Lösung im Überschuß und Rücktitration des unverbrauchten Cer(IV) mit Eisen (II) und o-Phenanthrolin als Indicator. Die Genauigkeit der seit Jahren erprobten Methode beträgt $\pm 2\%$. — *Ausführung.* 1. *Einstellung der Lösungen.* Die Eisen(II)-ammoniumsulfatlösung wird gegen eine 0,01 n Natriumoxalatlösung eingestellt, und die $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$ -Lösung gegen die Eisen(II)-Lösung. Man gibt 1 ml einer 0,014 m Cer(IV)-Lösung zu 1 ml 0,01 n Natriumoxalatlösung, fügt 1 ml 4 n Schwefelsäure und nach 30 min 0,02 ml einer 0,0005 m o-Phenanthrolinlösung zu und titriert mit der Eisen(II)-Lösung. 1 ml Cer(IV)-Lösung und 2 ml 2 n Schwefelsäure titriert man direkt ohne Oxalatzusatz mit der Eisen(II)-Lösung. Die Differenz der beiden Titrationen ergibt die Milliliter der Eisen(II)-Lösung, die 1 ml der 0,01 n Oxalatlösung äquivalent sind und somit 0,2 mg Calcium entsprechen. — 2. *Calciumbestimmung in Seren.* Man mischt in einem 15 ml-Zentrifugenglas 2 ml des zu untersuchenden Serums oder Heparinplasmas mit 2 ml Wasser und 1 ml 4%iger Ammoniumoxalatlösung, läßt 12 Std stehen, zentrifugiert, hebert die überstehende Lösung ab, wäscht 2 mal mit je 3 ml einer frisch bereiteten Mischung aus gleichen Teilen 95%igem Alkohol, Äther und 2%iger wäßriger Ammoniaklösung, zentrifugiert jedesmal und dekantiert die überstehende Flüssigkeit. Man trocknet anschließend den Calciumoxalatniederschlag durch Erhitzen des Zentrifugenglases im Wasserbad, löst das getrocknete Calciumoxalat in der Wärme in 2 ml 2 n Schwefelsäure, fügt nach dem Abkühlen 1 ml 0,014 m Cer(IV)-Lösung zu und rührt 30 min lang. Jetzt gibt man 0,02 ml 0,005 m o-Phenanthrolin-Indicatorlösung zu und titriert mit 0,005 m Eisen(II)ammoniumsulfatlösung auf Blauviolett färbung. — 3. *Calciumbestimmung in Urin.* 1—3 ml Urin bringt man mit 4 n Ammoniaklösung auf p_H 6,5 (Phenolrotindicator), versetzt mit Eisessig bis zur Gelbfärbung und fällt wie oben beschrieben. — 4. *Calciumbestimmung in getrockneten Geweben und Faeces.* Man behandelt 1 g der Untersuchungssubstanz in einer 10 ml-Platinschale mit konzentrierter Schwefelsäure zunächst bei 100°C dann 12 Std lang bei 700°C, löst den weißen Rückstand in 1—3 ml konz. Salzsäure, verdünnt auf 25 ml im Meßkolben und verfährt mit einem aliquoten Anteil wie unter 3. beschrieben weiter.

K. BRODERSEN

¹ ELVING, P. J., und E. R. CALEY: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. 9, 558 (1937); vgl. diese Z. 117, 270 (1939); 138, 79 (1953).

² Clin. Chemistry 1, 249—252 (1955). Goldwater Memorial Hospital, Welfare Island, New York (USA).

Zur komplexometrischen Mikrobestimmung von Calcium im Serum fallen H. E. HARRISON und H. C. HARRISON¹ das Metall bei pH 4,5–5 als Oxalat, lösen dieses in einem Überschuß einer eingestellten Komplexlösung bei pH 9,5 und titrieren mit Calciumchlorid gegen Eriochromschwarz T als Indicator zurück. — *Ausführung.* Zu 0,2 ml des Serums gibt man 0,2 ml des Fällungsreagenses, dargestellt aus 0,5 ml 0,1 n Oxalsäurelösung und 10 ml 0,1 n $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -Lösung, schüttelt 30 min, zentrifugiert 5 min und saugt die überstehende Flüssigkeit ab. Dann löst man mit genau 0,5 ml Komplexlösung (4,5 g $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ in 1 l Wasser; 2 ml davon werden täglich mit 10 ml einer 0,25 m Lösung von Äthanolamin verdünnt) und titriert mit 0,02 m Calciumchloridlösung bis zum Umschlag von Eriochromschwarz T nach Purpurrot. — Die Durchführung einer Blindprobe mit den Reagentien wird empfohlen.

G. DENK

Eine einfache und schnelle Methode zur Bestimmung des CO_2 -Gehaltes von Blutserum beschreibt A. KAHN². Das unter Luftabschluß entnommene, unter einer Mineralölschicht gesammelte Blut wird zentrifugiert und das Serum ebenfalls unter Ausschluß von Luft in ein pH-Meßgerät (Photos und Beschreibung im Original) gebracht. Nach der pH-Bestimmung, die auf $\pm 0,01$ genau sein muß und bei 37° C durchgeführt wird, bringt man in das in der Meßzelle befindliche Serum eine Capillare, die von einem langsamen Gasstrom aus 5–6% CO_2 und 95–94% N_2 von genau bekannter Zusammensetzung durchströmt wird. Nach etwa 1,5 min dauernder Durchströmung bestimmt man erneut den pH-Wert des Serums. Durch Einsetzen beider pH-Werte in die im Original entwickelten Gleichungen läßt sich der ursprüngliche CO_2 -Gehalt des Serums berechnen bzw. an einem Nomogramm ablesen. Eine umfangreiche Tabelle zeigt die gute Übereinstimmung der nach diesem Verfahren ermittelten CO_2 -Werte mit den nach Methoden von VAN SLYKE gewonnenen Befunden.

K. SÖLLNER

Polarographische Bestimmung von Blei in Blut. L. MAZZA, E. SCOTTI und B. M. BRUNO³ führen die polarographische Bestimmung von Blei in Blut in folgender Weise aus: 10 ml Blut werden mit 25 ml konz. Salpetersäure im Kjeldahl-Kolben in etwa 2 Std bis auf 5 ml eingedunstet, dann in der Quarzschale zur Trockene eingedunstet und 6 Std im Muffelofen bei 490° C gehalten. Nach Zugabe von 10 ml konz. Salpetersäure wird wieder abgedunstet und 6 Std auf 490° C erhitzt. Die Blutasche wird mit 10 Tropfen konz. Salzsäure aufgenommen und mit 3 ml Grundlösung versetzt, die aus 0,1 n Essigsäure und 50%iger Hydroxylaminhydrochloridlösung im Verhältnis 2 : 1 hergestellt ist. Das Gemisch wird etwa 40 min auf 90° C erwärmt, bis sämtliches Fe^{III} reduziert ist (Rhodanprobe). Von der klar zentrifugierten Lösung werden 2 ml mit 0,05 ml 0,1%iger Gelatinelösung versetzt, dann wird 15 min mit Wasserstoff durchperlt und anschließend von –0,2 bis –0,7 V polarographiert. Die gut meßbare Bleistufe wird mit einer zweiten Aufnahme des Polarogramms nach Zusatz einer bekannten Bleimenge verglichen. Der Fehler liegt dann unter $\pm 5 \mu\text{g}$ Blei je 100 ml Blut. Zur Vermeidung von Störungen wird empfohlen, das Anodenquecksilber erst nach dem Durchgasen der Lösung mit Wasserstoff zuzufügen.

K. CRUSE

Zur maßanalytischen oder colorimetrischen Bestimmung des Gesamtstickstoffs in biologischem Material dampft man nach E. ZYMNY⁴ die Analysenprobe mit

¹ J. Lab. clin. Med. 46, 662–664 (1955). Baltimore City Hospital und Johns Hopkins Univ.

² J. Lab. clin. Med. 46, 312–317 (1955). Univ. Chicago (USA).

³ Ann. Chimica 45, 797–804 (1955). Univ. Genua (Italien).

⁴ Dtsch. Apotheker-Ztg. 1955, 1035–1036. München.

25 ml Phenolschwefelsäure [hergestellt durch Lösen von 50 g Phenol in 1 l Schwefelsäure (1,84)] unter Zusatz von Bimssteinpulver in einem Kjeldahl-Kolben auf 30 ml ein, fügt nach dem Abkühlen 2,5 g Zinkstaub und 0,2 g Kupfersulfat zu und erhitzt, bis die Flüssigkeit hellgrün geworden ist. Nach Abkühlung, vorsichtigem Zusatz von 100—150 ml dest. Wasser und nochmaliger Kühlung alkalisiert man nach Zugabe einiger Zinkschnitzel mit 125 ml ammoniakfreier 33%iger Natronlauge und destilliert über einen Kühler etwa die Hälfte des Inhaltes in vorgelegte 5%ige Borsäurelösung. Das erkaltete Destillat wird mit 0,1 n Salzsäure mit Methylorange (oder Methylrot-Tetrabromphenolblaugemisch) als Indicator titriert, wobei 1 ml der Säure 1,4 mg Stickstoff entspricht. Bei Anwesenheit von viel Nitritstickstoff fallen die Werte zu niedrig aus. — Für die colorimetrische Stickstoffermittlung nach W. AUTHENRIETH und H. TAEGER¹ erhitzt man 100 ml Probezugut mit 5 ml konz. Schwefelsäure, 5 g Kaliumsulfat und 0,05 g Selenreaktionsgemisch in einem Kjeldahl-Kolben mit 15 cm langem Hals etwa 1 Std zum Sieden, spült nach dem Erkalten den Kolbeninhalt mit ammoniakfreiem Wasser in einen 1 l-Meßkolben, alkalisiert mit 20%iger Natronlauge und füllt auf 1000 ml auf. Nach dem Absitzen der Fällung verdünnt man 25 ml der überstehenden blanken Flüssigkeit auf 100 ml und bestimmt nach Zusatz von 2 ml NESSLERS Reagens und Umschütteln nach 2—3 min mit einem HELIGE-Universalcolorimeter unter Benützung der dem Apparat beiliegenden Colorimeterskala den in 102 ml enthaltenen Stickstoff in Milligramm. Die Multiplikation mit 40 ergibt den N₂-Gehalt der Analysenprobe in mg-%.

K. SÖLLNER

Zur Bestimmung von mikromolaren Mengen Hydroxylamin in biologischem Material entwickeln D. S. FREAR und R. C. BURRELL² ein spektrophotometrisches Verfahren, das auf der Messung der mit 8-Oxychinolin entstehenden Farbe beruht. Das gefärbte, stabile Reaktionsprodukt ist Indooxin [5,8-Chinolinchinon-5-(8-Oxy-5-chinolylylimid)]. Bei der Wellenlänge des Absorptionsmaximums (705 m μ) ist das BEERSche Gesetz im Konzentrationsbereich 0 bis $5 \cdot 10^{-2}$ Millimole NH₂OH/ml Lösung erfüllt. Das Verfahren dient zur *Bestimmung der Hydroxylaminreductaseaktivität in Sojabohnenblättern*. — *Ausführung. Aufstellung der Eichkurve.* Man versetzt 1 ml der Hydroxylaminstandardlösung (0—0,25 Mikromole NH₂OH · HCl) mit 1,0 ml 0,05 m Phosphatpufferlösung, p_H 6,8 (0,05 m NaH₂PO₄-Lösung durch Zugabe von 0,05 m Na₂HPO₄-Lösung auf p_H 6,8 eingestellt), verdünnt mit Wasser auf 2,8 ml und fügt 0,2 ml 12 gew.-%ige Trichloressigsäure zu. Nach dem Durchmischen gibt man 1,0 ml Oxychinolinlösung (1 g in 100 ml absol. Äthanol) zu, mischt, versetzt mit 1,0 ml 1 m Na₂CO₃-Lösung, schüttelt kräftig durch und erhitzt zur Entwicklung der grünen Farbe 1 min verschlossen im Wasserbad. Nach 15 min mißt man bei 705 m μ in der 1 cm-Küvette gegen eine Blindlösung der Reagentien. — *Bestimmung der Hydroxylaminreductaseaktivität.* Man verreibt 1 g junge Sojabohnenschößlinge mit 1 g gewaschenem Sand und 10,0 ml kalter 0,05 m Phosphatpufferlösung von p_H 6,8, filtriert und zentrifugiert den erhaltenen Brei. In einer Proberöhre mischt man 1,0 ml Hydroxylaminstandardlösung (0,25 Mikromole NH₂OH), 1,0 ml 0,05 m Phosphatpufferlösung (p_H 6,8), 0,1 ml $3 \cdot 10^{-4}$ m reduzierter Diphosphopyridin-nucleotidlösung, 0,1 ml 0,001 m MnCl₂-Lösung, 0,3 ml klaren Pflanzenextrakt, ergänzt mit Wasser auf 2,8 ml und inkubiert im Wasserbad bei 30° C 5—15 min lang. Die Enzymreaktion wird durch Zugabe von 0,2 ml der Trichloressigsäurelösung unterbrochen. Hierauf fügt man 1,0 ml Oxychinolinlösung zu und verfährt weiter wie oben beschrieben. Zur Korrektur für die Selbstersetzung des Hydroxylamins bei p_H 6,8 führt man eine Parallelbestimmung mit gekochtem Pflanzenextrakt aus.

A. KURTENACKER

¹ Münchener med. Wschr. 31, 1141 (1922); vgl. diese Z. 69, 317 (1926).

² Analyt. Chemistry 27, 1664—1665 (1955). Univ. Columbus, Ohio (USA).

Zur Mikrobestimmung von Phosphor, besonders in biologischem Material ändert D. N. RHODES¹ die Methode von R. J. L. ALLEN² etwas ab: Die Probe wird mit Überchlorsäure digeriert, das Molybdänblau im gleichen Kolben nach ALLEN entwickelt und nach 5 min mit 3 ml Methylisobutylketon 1 min geschüttelt. Die Intensität der Farbe im organischen Medium wird innerhalb von 30–60 min bei 680 m μ gemessen. Die Werte ergeben sich aus einer Eichkurve. 1 μ g P kann noch bestimmt werden, bei Verringerung des Volumens sogar noch weniger.

G. DENK

Verbesserte Analysenmethoden für Sauerstoff und Kohlenoxyd im Fingerspitzenblut werden von S. NATELSON und C. M. MENNING³ beschrieben. Die Bestimmung geschieht in 0,03 ml Blut in einem von den Verff. entwickelten Mikrogasanalyseapparat (Abb. im Original). Der durch Kaliumcyanoferrat(III) freigemachte Sauerstoff wird in bekannter Weise vom Kohlendioxyd befreit und durch Natriumdithionit absorbiert, darauf kann Kohlenoxyd durch Absorption in Kupfer(I)-chlorid-Ammoniak bestimmt werden. Das Gerät soll zur schnellen Analyse des Blutes von cyanotisch werdenden Neugeborenen dienen. — Die Reagentien werden vorher in Vials luftfrei gemacht und mit Mineralöl überschichtet. Die Genauigkeit der Sauerstoffbestimmungen wurde durch äquivalente Hämoglobin-Eisenbestimmungen bestätigt. Hierbei wurde das Eisen nach feuchter Veraschung als Thio-cyanat ermittelt.

H. CARLS

Mikrobestimmung des Schwefels in biologischem Material. J. BROEKHUYSEN und J. BÉCHET⁴ oxydieren den Schwefel zu Sulfat und benutzen zu dessen Bestimmung eine Modifikation der Methode von L. W. WINKLER⁵. — *Ausführung.* Das schwefelhaltige Material mit 1–5 mg S wird mit Sauerstoff in der MAHLERSchen Bombe verbrannt, die mit einigen Millilitern 5% iger Na₂CO₃-Lösung beschickt wird. Zur vollständigen Oxydation wird noch mit einigen Millilitern H₂O₂ 15 min gekocht. Nach dem Filtrieren neutralisiert man die Lösung, füllt auf 100 ml auf und verwendet 10 ml für die Bestimmung. Man fällt in salzsaurer Lösung (pH 0,5–1,0) bei Siedetemperatur durch tropfenweise Zugabe von 5 ml 4 · 10⁻³ m BaCl₂-Lösung und vervollständigt die Fällung nach dem Abkühlen durch Einstellen auf pH 3–4 mit Ammoniak. Dann wird das Gemisch in eine Mischung von 5 ml 4 · 10⁻³ m Kaliumchromatlösung, 2 Tr. 10% iger AlCl₃-Lösung, 10 ml Alkohol und Ammoniak bis pH 9–9,5 gegeben, mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt, umgeschüttelt und filtriert. Auf diese Weise wird der Überschuss an Barium bei pH 9 mit Chromat in wäßrig-alkoholischer Lösung in Gegenwart von kolloidalem Aluminiumhydroxyd gefällt. Der Chromatüberschuß entspricht dann der ursprünglichen Sulfatmenge. Man bestimmt ihn durch Messung der optischen Dichte des Filtrates bei 370 m μ . — Die Resultate sind auf 2–3% genau, die Empfindlichkeit der Methode beträgt 0,1 mg S in der Probe.

H. CARLS

Zur Bestimmung des Schwefels in nichtflüchtigen organischen Stoffen versetzen E. W. MCCHESNEY und W. F. BANKS jr.⁶ die 0,8–1,6 mg S entsprechende

¹ Nature (London) **176**, 215–216 (1955). Low Temperature Res. Station, Cambridge (England).

² Biochemic. J. **34**, 858 (1940); vgl. auch diese Z. **136**, 189 (1952).

³ Clin. Chemistry **1**, 165–179 (1955). Memor. Hosp., Rockford, Ill. (USA).

⁴ Anal. chim. Acta (Amsterdam) **13**, 277–280 (1955). Serv. de Rech. du C. E. R. J. A., Inst. Emile Gryson, Brüssel (Belgien).

⁵ Diese Z. **40**, 465 (1901).

⁶ Analyt. Chemistry **27**, 987–990 (1955). Sterling-Winthrop Res. Inst., Rensselaer, N. Y. (USA).

Substanzmenge in einer Proberöhre (2×20 cm) mit 25,0 ml-Marke mit 0,2 ml 2%iger FeCl_3 -Lösung (als Katalysator) und 10 ml 28%iger Chlorsäurelösung, die nach B. ZAK und A. J. BOYLE¹ aus KClO_3 und Perchlorsäure und Abfiltrieren von dem ausgeschiedenen KClO_4 hergestellt wird. Man verschließt die Röhre lose mit einem umgestülpten Kölbchen, erhitzt eine Stunde auf 120 – 130°C , dann solange auf 170 – 180°C , bis der Chlorsäureüberschuß zerstört ist, verdünnt den Rückstand (1,5 ml) mit Wasser auf 10 ml und neutralisiert sehr sorgfältig gegen Bromphenolblau als Indicator mit 6 n Kalilauge. Ohne den KClO_4 - und $\text{Fe}(\text{OH})_3$ -Niederschlag zu berücksichtigen, fügt man genau 2 ml 0,0312 m BaCl_2 -Lösung zu (1 ml $\approx 1,00$ mg S), verdünnt zur 25 ml-Marke, läßt 5–10 min stehen und zentrifugiert. 10 ml der überstehenden Flüssigkeit werden in einem anderen Zentrifugierrohr mit 0,50 ml 0,0499 m $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ -Lösung (die 300 ml 30%iger NH_3 -Lösung im Liter enthält) versetzt. Nach 5 min zentrifugiert man wieder und bestimmt das Chromat in der überstehenden Flüssigkeit durch Farbmessung bei $420\text{ m}\mu$. Die Eichkurve (Gerade) wird mit Standard-Sulfatlösung unter genau gleichen Bedingungen aufgestellt. Mengen von 1 mg Schwefel können mit einer Genauigkeit von $\pm 2\%$ bestimmt werden. — Die Methode ist auf *biologische Materialien wie Plasma, Urin, Galle und Gewebe* anwendbar. Stoffe mit schwer oxydierbaren Gruppen, wie Methionin, müssen längere Zeit bei über 200°C oxydiert werden.

R. HELMERS

Eine genaue differentialpotentiometrische Chloridbestimmung in Plasma beschreiben V. P. DOLE und N. A. THORN². Man beschickt das Titrationsgefäß mit 1 ml 1 n Schwefelsäure und gibt 1 ml Serum, daraufhin 1 ml 0,095 n Silbernitratlösung zu. Zur Erzielung genauerer Werte wird das Gewicht der drei Zusätze ermittelt. Nun setzt man das in Abb. 1 skizzierte Elektrodenpaar ein. Die Elektroden sind Platindrähte, die in üblicher Weise elektrolytisch mit Ag und AgCl überzogen werden. Man wartet, bis der Ausgleich des Potentiometers erfolgt ist und senkt dann die mit einer Gummidichtung versehene Glasmanschette der rechten Elektrode auf den Boden des Titrationsgefäßes auf. Unter gleichzeitigem Einblasen von Stickstoff durch eine Capillare fügt man Silbernitratlösung zu, bis das Potential scharf anzusteigen beginnt. Durch Hochheben der Glasmanschette wird unter fortgesetztem Durchleiten von N_2 die gleichmäßige Durchmischung der Titrationsflüssigkeit erreicht. Die Manschette wird dann wieder gesenkt und der Chloridrest mit 1:5 verdünnter AgNO_3 -Lösung titriert. Man setzt diese in 0,01 ml-Anteilen bis zur Erreichung

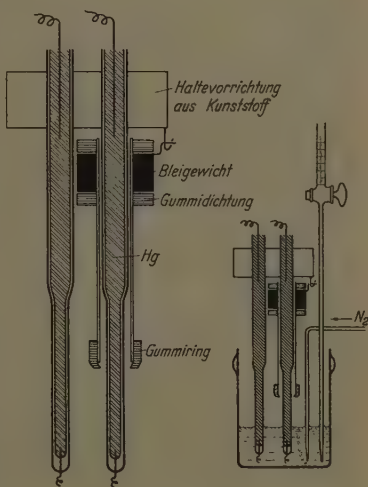


Abb. 1.
Titrationsgefäß zur differentialpotentiometrischen Cl-Bestimmung nach DOLE und THORN

¹ J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 260 (1952); vgl. diese Z. **139**, 385 (1953).

² Analyt. Chemistry **27**, 1184–1186 (1955). Rockefeller Inst. Medic. Res., New York, N. Y. (USA).

der maximalen Potentialdifferenz zu. Die Genauigkeit der Bestimmung beträgt 0,1%. Das Original enthält eine Erläuterung der theoretischen Grundlagen der Methode.

K. SÖLLNER

Eine modifizierte enzymatische Mikromethode zur Äthanolbestimmung wird von N. G. BRINK, R. BONNICHSEN und H. THEORELL¹ angegeben. — *Benötigte Reagentien.* Diphospho-pyridin-nucleotid (DPN) 10 mg/ml; 0,1 m Glycin-NaOH-Pufferlösung, p_H 9,6; Semicarbazidlösung (125 mg reinstes Semicarbazid gelöst in 20 ml 0,1 n NaOH-Lösung, eingestellt auf p_H 10. Die Lösung wird mit Glycin-NaOH-Puffer auf 200 ml verdünnt); Alkoholdehydrogenase (ADH) (1 mg/ml, frei von Äthanol). Äthanoltestlösung (1—10 μ g Äthanol in 0,05 ml, entsprechend 2 bis 20 mg-% Äthanol). — *Bestimmung.* Man mischt 1,3 ml DPN-Lösung, 35,1 ml Semicarbazid-Pufferlösung, 2,6 ml ADH und 0,05 ml der zu prüfenden Lösung, entnimmt nach dem Temperatúrausgleich 3 ml und mißt die Extinktion im Beckman-Spektrophotometer bei 340 $m\mu$. Für den Leerwert werden 0,05 ml Wasser (an Stelle der Probe), für die Eichlösungen 0,05 ml Äthanoltestlösung verwendet. Nach 60 min erfolgt eine weitere Messung bei 340 $m\mu$ gegen den Leerwert. Die Extinktionszunahme ist dem Alkoholgehalt proportional. Bei 1—10 μ g Äthanol beträgt der mittlere Fehler 3,8%. Mit Hilfe der Standardkurve können ohne Verdünnung bis 140 μ g Äthanol gemessen werden.

K. HINSBERG

Um die häufig vorkommenden Unstimmigkeiten bei der Blutharnstoffbestimmung auszuschalten, führte E. GUERRERO-STRACHÁN ROSADO² eine systematische Untersuchung durch. Er beobachtete speziell die Antikoagulierungsmittel, den Einfluß des Glucosegehaltes des Blutes und technische Fehlerquellen. An Hand von Tabellen und Kurven zeigt der Verf., daß als Antikoagulierungsmittel nur Na- und K-oxalat verwandt werden dürfen und daß bei Verwendung des Antikoagulierungsmittels nach WINTROBE die Trocknungstemperatur 37° bzw. 60° oder 120° C wegen des Korrekturfaktors ($1/2$ oder $1/4$) zu beachten ist. Der Harnstoffgehalt ist vom Glucosegehalt abhängig, jedoch diesem nicht proportional. Das Blut soll nicht hämolysiert werden, denn man kann es dann nicht colorimetrisch bestimmen. Bei der Anwendung des Mikroureometers nach BARRÓN ist auf die genaue Einhaltung der Analysenvorschrift vor allem bezüglich der Reihenfolge und Mischungen der Reagentien zu achten. Schon behandelten Blutproben ist unbedingt eine genaues Verzeichnis der erfolgten Reaktionen, Zusätze usw. beizufügen, um den Analysengang entsprechend einrichten zu können.

IRMGARD PFITZER

Fettsäureester (FSE) in Blutserum und anderem biologischem Material bestimmen M. JARRIER und J. POLONOVSKI³ auf Grund von deren Fähigkeit, mit Hydroxylamin nach der Formel $RCOOR' + NH_2OH \rightarrow R'OH + RCONHOH$ zu reagieren. Die so entstandenen Hydroxame bilden mit Eisen(III)-Ionen rotviolette Farbkomplexe, deren Extinktion proportional der FSE-Menge ist. — *Ausführung.* 1 ml Serum wird mit einem Gemisch aus 1 Teil absolutem, peroxydfreiem Äther und 3 Teilen Alkohol auf 20 ml ergänzt. Nach kräftigem Umschütteln oder 1 min langem Erwärmen auf dem siedenden Wasserbade filtriert man 5 ml (entsprechend 0,25 ml Serum mit 2—3 μ -Äquiv. FSE) ab und dampft diese im Vakuum ein. Den Rückstand nimmt man in 0,3 ml einer 2,5%igen Lösung von $NH_2OH \cdot HCl$ in 95%igem Äthanol (im Kühlschrank aufzubewahren) auf, fügt 0,3 ml einer 2,5%igen

¹ Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) 10, 223—226 (1954). Nobel-Inst. (Stockholm).

² Laboratorio (Granada) 20, 207—220 (1955). S. O. de E. de Málaga (Spanien).

³ Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 37, 495—499 (1955). Faculté de Médecine Paris.

NaOH-Lösung in 95%igem Äthanol zu und läßt 1 Std stehen. Dann setzt man 10 ml Eisen(III)-perchloratreagens zu, das folgendermaßen hergestellt wird: 0,4 g Eisen oder 1,16 g Eisen(III)-chlorid löst man in einer Mischung von 20 ml Wasser, 3 ml Salpetersäure und 15 ml Perchlorsäure, erhitzt die Lösung bis zum starken Rauchen, gibt nach dem Erkalten 40 ml Wasser und 10 ml Salpetersäure zu und füllt mit Perchlorsäure auf 100 ml auf. Unmittelbar vor Gebrauch verdünnt man 5 ml dieser Stammlösung mit 95%igem Äthanol auf 100 ml. Nachdem der Ansatz 20 min bei 25° C gestanden hatte, mißt man die Extinktion bei 250 m μ . Unter Verwendung einer Lösung von 284 mg Äthylpalmitat in 1000 ml Äther (1 μ -Äquiv.) stellt man auf analoge Weise die Eichkurve her. Verff. beschreiben die sinngemäß erfolgende Bestimmung der FSE in *Lecithin* und *Cerebrosid* (Tabellen im Original).

K. SÖLLNER

Für die Papierchromatographie von Phosphorsäureestern in Gewebsextrakten geben E. GERLACH, E. WEBER und H. J. DÖRING¹ auf Grund ausgedehnter Untersuchungen einige neue Lösungsmittelgemische an, die eine störungsfreie Trennung der in den Geweben enthaltenen Phosphorsäureester sowie auch eine Trennung dieser Verbindungen von chemisch sehr ähnlichen Substanzen gestatten. Die folgenden Lösungsmittelgemische können sowohl aufsteigend als auch absteigend (ein- und zweidimensional) angewendet werden (eine gesättigte Dampf-atmosphäre während der Laufzeit in den Chromatogrammgefäßen ist nicht notwendig). — 1. 30 ml Diisopropyläther, 30 ml n-Butanol, 20 ml Ameisensäure (98/100%ig); diese Mischung muß stets frisch zubereitet werden. Sie ist besonders geeignet für die Auftrennung von Triosephosphaten sowie zur Abtrennung des Orthophosphates und einiger anderer P-Ester von den Nucleotiden. — 2. 45 ml Methyläthylketon oder Diisopropyläther, 25 ml wassergesättigtes Butanol, 5 ml n-Propanol, 20 ml Ameisensäure (98—100%ig); auch dieses Lösungsmittel muß stets frisch zubereitet werden. Es ermöglicht die Abtrennung fast aller Nucleotide von Nucleosiden, freien Purin- und Pyrimidinkörpern sowie von Orthophosphat und den meisten Triosephosphaten. — 3. 40 ml n-Butanol, 20 ml n-Propanol, 25 ml Aceton, 25 ml 80%ige Ameisensäure, 15 ml 30%ige Trichloressigsäure. Trotz schnell eintretender Veresterung erfolgt eine sehr scharfe Lokalisation von einigen Zucker-P-Estern und Monophosphonucleotiden. Die meisten P-Verbindungen können mit diesem Gemisch als Erdalkalisalze chromatographiert werden. Bei zweidimensionalen Chromatogrammen ist vor der Ammoniakbehandlung die Trichloressigsäure mit Diäthyläther zu entfernen. — 4. 35 ml n-Butanol, 15 ml n-Propanol, 15 ml Aceton, 40 ml Ammoniak (25%ig), 5 ml Wasser. — 5. 35 ml n-Butanol, 25 ml n-Propanol, 35 ml Ammoniak (25%ig), 10 ml Wasser. — 6. 30 ml n-Butanol, 25 ml n-Propanol, 5 ml Äthanol, 30 ml Ammoniak (25%ig), 10 ml Wasser. Diese Gemische eignen sich besonders gut für die Auftrennung der meisten Nucleotide und nahe verwandter Zucker-P-Ester (ferner für 3'- und 5'-AMP, 5'-ADP, 5'-ATP, Adenosintetraphosphat, ITP, IDP, andere Nucleotide, Orthophosphat, Kreatinphosphat, Glucose-1-phosphat, Glucose-6-phosphat, Fructose-6-phosphat). Ammoniakalische Lösungsmittel mit einem Zusatz von 8-Oxychinolin bzw. 8-Oxychinolin und Dinatriumdihydrogen-äthylendiamintetraacetat erwiesen sich als besonders geeignet für die scharfe Lokalisation von Nucleotiden und Phytinsäure. Die mit den Lösungsmittelgemischen 1, 2, 3 und 5 ermittelten R_F-Werte reiner Testsubstanzen von 31 Phosphorverbindungen werden mitgeteilt.

H. KATHEN

Die Bestimmung energiereicher Phosphatverbindungen im Gehirn war bis jetzt nur in relativ großen Substanzmengen möglich. Deshalb haben C. C. KRATZING und

¹ Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 226, 9—17 (1955). Univ. Heidelberg.

A. NARAYANASWAMI¹ auf die Methode von E. C. SLATER² zurückgegriffen, die auf der spektrophotometrischen Bestimmung von Dioxyacetonphosphat und seiner enzymatischen Reduktion durch reduziertes Diphosphopyridinnucleotid beruht. Die Analysen wurden mit denen von W. E. STONE³ verglichen. (Ohne die genannten Arbeiten ist die Methode nicht verständlich, da die Verf. auf die früheren methodischen Angaben zurückgreifen.) Nach den Angaben von SLATER² lassen sich ATP (*Adenosintriphosphat*), ADP (*Adenosindiphosphat*), CP (*Creatinphosphorsäure*) und PB (*Phosphorbrenztraubensäure*) zusammen bestimmen. Da der PB-Gehalt und auch der Phosphoglyceringehalt im Gehirn nur gering ist, kann der energiereiche Phosphor als Summe von ATP, ADP und CP betrachtet werden. Durch eine Modifikation der SLATERSchen Methode C durch Zusatz von Myokinase ist es möglich, ADP und CP getrennt zu bestimmen unter Bildung von Adenylsäure und Glucosemonophosphorsäure. Die Vollständigkeit des Reaktionsablaufes wird durch einen Überschuß von Ferment erreicht. Störende Substanzen werden in einem Leerwert bestimmt und in Abzug gebracht. Als Puffer wird Glycylglycinsalzlösung verwendet; Glucose wird in 0,012 m und Glutarsäure in 0,02 m Lösung zugesetzt. Gewöhnlich verwenden die Verf. 80–120 mg Schnitte in 3 ml Lösung, entweder unter reinem Sauerstoff für aerobe Versuche oder 95% Stickstoff und 5% CO₂ für anaerobe Versuche. Dinitrophenol wird dem Ansatz vor den Schnitten zugegeben. Die Extrakte aus Schnitten werden in der Weise gewonnen, daß im ganzen 0,2–0,3 g in 1 ml eiskalter 19% iger Perchlorsäure eingewogen und sofort homogenisiert und zerstört werden. Nachdem die Mischung einige Minuten in Eis gestanden hat, wird hochtourig zentrifugiert, das Überstehende abgetrennt, gemessen, auf pH 7,6 mit Kalilauge neutralisiert und dann der pH-Wert durch Glycylglycinpuffer genau auf pH 7,6 eingestellt. Die neutralisierten Extrakte können bei –20° C aufgehoben werden. Zur Analyse nach der Ca-Äthanolmethode werden 2 Schnitte der Gehirnrinde zu 3 ml eiskalter 10% iger Essigsäure zugesetzt, zerteilt, zentrifugiert und das Überstehende zur Messung verwendet. Um Extrakte aus rasch eingefrorenem Gehirn zu bekommen, werden junge 80–100 g schwere Meerschweinchen mit dem Kopf in etwa 500 ml flüssige Luft getaucht, bis das Gewebe durchgefroren ist, dann werden entsprechende Schnitte aus dem Gehirn entnommen, wobei dauernd mit flüssigem Stickstoff gekühlt wird. Die Extraktion erfolgt entweder mit Perchlorsäure unter Zerreiben unter flüssigem Stickstoff in einem Mörser. In einem Falle werden die Tiere dekapitiert und der Kopf allein eingefroren. Die Myokinase wird nach S. P. COLOWICK und H. M. KALCKAR⁴ durch Fällung mit 80% gesättigter Ammonsulfatlösung hergestellt und in gefrorenem Zustand aufbewahrt. Andere Enzyme und Dihydro-DPN werden nach SLATER gewonnen. Die Bestimmung lehnt sich an die von SLATER an, aber die Natriumfluoridlösung wird durch 0,15 ml 0,043 m Ammoniummolybdatlösung ersetzt. Die Reaktion wird nach 2 Std bei Raumtemperatur durch 0,32 ml 38% ige Perchlorsäure unterbrochen. Nach dem Zentrifugieren wird das Überstehende mit 5 n KOH-Lösung neutralisiert, wobei der Überschuß der Perchlorsäure als Kaliumsalz entfernt wird. ADP wird zu HMP unter Zusatz von Hexokinase umgewandelt in Gegenwart von 0,05 ml verdünnter Myokinaselösung. Die Änderungen in der Extinktion wurden mit einem Beckman-Spektrophotometer gemessen. Anorganische Phosphorsäure, CP und ATP werden nach STONE bestimmt. Die nichthydrolysierbare calciumunlösliche Fraktion wird gesondert untersucht. Die so gefundenen Werte für Creatinphosphorsäure decken sich mit den Werten nach einer chemischen

¹ Biochemic. J. 54, 317–323 (1953). Inst. Psychiat. Maudsley Hosp., Univ. London.

² Biochemic. J. 53, 157 (1953); vgl. diese Z. 140, 395 (1953).

³ J. biol. Chemistry 149, 29 (1943).

⁴ J. biol. Chemistry 148, 117 (1943).

Methode. Es wird aber weniger ATP und ADP gefunden als nach chemischen Methoden. In der Gehirnrinde waren nur Spuren von ADP vorhanden. Die Arbeit enthält zahlreiche Tabellen über den Gehalt des Gehirnes unter verschiedenen Stoffwechselbedingungen.

K. HINSBERG

Zum papierchromatographischen Nachweis von Barbituraten (BS) in Körperflüssigkeiten säuert man diese nach einem Vorschlag von R. DEININGER¹ an, schüttelt sie mehrfach mit Äther (Ä) aus und reinigt die getrockneten Ä-Auszüge nach der Technik von R. FISCHER und C. CHALUPA² in einem vom Verf. entwickelten Apparat (Abb. 1), der die nahezu verlustlose Anreicherung der BS aus 20 ml Harn oder 5 ml Blut in 0,1 ml Ä gestattet. Der Ätherextrakt wird durch Aluminiumoxyd (nach BROCKMANN) und Aktivkohle filtriert. Bei dreimaligem Nachwaschen mit trockenem Äther und Ätheralkohol werden Verluste an Barbituraten durch Adsorption weitgehend vermieden. Die aufsteigende Entwicklung erfolgt mit dem System Isopropanol-25% iges Ammoniak-Chloroform (45 : 10 : 45) (weitere Kombinationen im Original), wobei folgende R_f -Werte erhalten werden: Veronal 0,37, Luminal 0,44, Dial 0,48, Numal 0,53, Phandorm 0,56, Noctal 0,6, Pernocton 0,7, N-Methylveronal 0,75, Pentothal 0,78, Prominal 0,79, Evipan 0,81, Eunarcon 0,86 und Narconumal 0,9. Durch 1 min langes Eintauchen des sorgfältig getrockneten, anschließend 30 min bei 60° C gehaltenen Chromatogrammes in gesättigte, (etwa 1% ige) wäßrige Quecksilber(I)-nitratlösung erhält man an den BS-haltigen Stellen grauschwarze Flecken, die sich, wenn das Papier anschließend gründlich ausgewaschen wird, noch verstärken und beim Trocknen noch besser hervortreten. Bei nicht am Stickstoff methylierten BS beträgt die Nachweisgrenze 5–10 µg. von den N-methylierten BS werden 50 µg für den positiven Ausfall der Reaktion benötigt. Zur Vororientierung auf Anwesenheit von BS überhaupt kann die ZWICKER-Reaktion angewandt werden: Man betupft den Startpunkt mit alkoholischer 2% iger Kobaltacetatlösung und bringt den Streifen in den Dampf von Pyrrolidin oder in die Atmosphäre der obengenannten Lösungsmittelkombination. Anschließend kann die Chromatographie durchgeführt werden, da das Co-Salz am Startpunkt zurückbleibt.

K. SÖLLNER

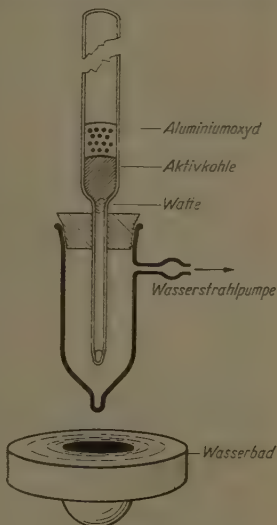


Abb. 1
Reinigungsapparat nach DEININGER

Zur Bestimmung von Dibenamin und dibenaminartigen Verbindungen in Harn und Serum verwenden K.-H. BOLTZE, D. WEYLAND und H. HOFMANN³ Bromkresolpurpur als Farbstoffadduktbildner und erreichen dadurch eine bedeutende Vereinfachung gegenüber der von B. B. BRODIE und S. UDENFRIEND⁴ beschriebenen Methode. Das neue Verfahren ist außerdem genauer. Die Bildung der Farbstoff-

¹ Arzneimittel-Forsch. 5, 472–475 (1955). Univ. München.

² Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta 34, 257 (1949); vgl. diese Z. 131, 238 (1950).

³ Biochem. Z. 327, 239–244 (1955). Univ. Jena.

⁴ J. biol. Chemistry 58, 705 (1945).

additionsverbindung ist stark pH -abhängig, weswegen auf Einhaltung des optimalen Wertes 5,2 bzw. 4,5 zu achten ist. Die Erfassungsgrenze in $\mu g/ml$ Harn für Dibenaminalkohol nach B. B. BRODIE und S. UDENFRIEND beträgt 12,5. Mit der neuen Methode beträgt die Erfassungsgrenze für Dibenaminalkohol 5,0 und für Dibenamin-HCl 2,5. — *Ausführung. Bestimmung von Dibenamin.* In einem 100 ml-Scheide-trichter mischt man 10 ml zu untersuchende Lösung mit 5 ml Phosphatpuffer nach SÖRENSEN (pH 5,2) und mit 5 ml Bromkresolpurpur-Lösung (0,2 g in 50 ml Wasser gelöst, mit 3,2 ml 0,1 n NaOH-Lösung versetzt und auf 250 ml aufgefüllt). Dann wird 2 mal mit je 50 ml Benzol 2 min geschüttelt. Die vereinten Benzolphasen filtriert man durch trockenes Faltenfilter und schüttelt 2 mal mit je 10 ml 0,05 n NaOH-Lösung aus. Die vereinigten bläulichen NaOH-Extrakte werden nach Filtration mit 0,05 n NaOH-Lösung auf 25 ml aufgefüllt und im PULFRICH-Photometer in der 2 cm-Küvette mit Filter S 59 gegen Wasser gemessen. Die Färbung ist mindestens 12 Std konstant. Für die Eichkurve gilt von 25—400 $\mu g/10$ ml das LAMBERT-BEER-sche Gesetz. Harn wird vorher mit H_3PO_4 auf pH 5,3 gebracht. Der mittlere Fehler ($s\%$) beträgt für 25—400 $\mu g/10$ ml Harn $\pm 10,0$ bis $\pm 3,9$. Bei Serum versetzt man 1 ml mit 1—2 Tropfen n Salzsäure und 14 ml Phosphatpuffer; außerdem wird hier 2 mal 4 min mit je 50 ml Benzol geschüttelt. $s\%$ für 25—300 $\mu g/10$ ml Serum beträgt $\pm 9,8$ bis $\pm 4,8$. Auch *Dibenaminalkohol*, der durch alkalische Hydrolyse von Dibenamin gewonnen wird, läßt sich bei pH 4,5 bestimmen. $s\%$ für 50—300 μg je 10 ml Harn beträgt $\pm 12,2$ bis $\pm 8,7$.

E. MÜLLER

Papierchromatographischer Nachweis von Phenobarbital im Urin. A. S. CURRY¹ bringt in einer Notiz die Abbildung eines Papierchromatogramms, das als eindeutiger Beleg für den Nachweis von Phenobarbital im Urin nach einer akuten Phenobarbitalvergiftung dienen kann. Die Chromatographie erfolgte nach E. J. ALGERI und J. T. WALKER² auf Whatman-Papier Nr. 1 aufsteigend mit frisch bereitetem, mit 5 n Ammoniak gesättigtem n-Butanol als Lösungsmittel. Zur Extraktion der Barbiturate aus dem Urin diente das Verfahren von P. VALOV³ (Ätherextraktion nach Enteiweißen mit Wolframsäure).

A. KURTENACKER

Zur Bestimmung von p-Aminosalicylsäure und Isonicotinsäurehydrazid im Blut geben E. N. DEEB und G. R. VITAGLIANO⁴ eine neue Methode an. Sie ist eine Modifikation der Bestimmung der beiden Substanzen in pharmazeutischen Präparaten von E. N. DEEB⁵ und beruht auf der Tatsache, daß PAS mit Vanillin die Verbindung N-(3-Methoxy-4-oxybenzyliden)-p-aminosalicylsäure und Isonicotinsäurehydrazid mit Vanillin die Verbindung 1-Isonicotinyl-2-(3-methoxy-4-oxybenzyliden)-hydrazin gibt. Beide Verbindungen sind gelb. Man stellt zuerst eine Eichkurve her: In 8 Röhrchen zu ~ 25 ml gibt man je 2 ml Plasma und 0,2, 0,6, 1,0, 1,4, 1,8, 2,2, 2,6 und 3,0 ml PAS-Lösung, die 10 mg/100 ml enthält (138 mg Na-PAS werden zu 100 ml in Wasser gelöst und um das 10fache verdünnt). Mit Wasser wird jedes Röhrchen auf 12 ml aufgefüllt, mit 4 ml 20%iger Trichloressigsäure versetzt, kräftig geschüttelt, 5 min bei 1500 U/min zentrifugiert und filtriert. 8 ml Filtrat füllt man in eine 19 $\times$ 150 mm-Küvette, setzt 1 ml 10%ige Vanillinlösung (10 g Vanillin in 50 ml 95%igem Alkohol, mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt) und 1 ml 5 n Schwefel-

¹ J. Pharmacy Pharmacol. 7, 604—605 (1955). Forensic Sci. Labor., Haddon Lodge, Harrogate (England.).

² Amer. J. clin. Pathol. 22, 37 (1952).

³ Ind. Engng. Chem., anal. Edit. 18, 456 (1946).

⁴ J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit., 44, 182—185 (1955). Veterans Administr. Hospital, Rutland Heights, Mass. (USA).

⁵ Drug Standards 22, 194 (1954).

säure zu, mischt und läßt 10 min stehen. Bei 410 m μ photometriert man gegen eine Kontrollösung aus 8 ml Wasser, 1 ml 10% iger Vanillinlösung und 1 ml 5 n Schwefelsäure. Die Ablesungen müssen mit 10 multipliziert werden, um die Blutwerte zu erhalten. Für Isonicotinsäurehydrazid verfährt man bis auf folgende Abweichungen genau so. Standardlösung: 20 μ g/ml (100,0 mg werden zu 500 ml in Wasser gelöst, davon 10 ml auf 100 ml verdünnt). Es werden nur 5 Röhrchen mit je 4 ml Plasma benutzt und 1, 2, 3, 4 und 5 ml Standardlösung zugesetzt. Mit Wasser wird auf 8 ml aufgefüllt und es werden 8 ml 20% ige Trichloressigsäure zugesetzt. Man benutzt hier 1 ml 2% ige Vanillinlösung (2 g in 25 ml 95% igem Alkohol gelöst und mit Wasser auf 100 aufgefüllt) und 1 ml n Schwefelsäure. Bei 400 m μ wird gemessen und als Kontrolle eine Lösung von 8 ml Wasser, 1 ml 2% ige Vanillinlösung und 1 ml n Schwefelsäure benutzt. Der abgelesene Wert muß mit 5 multipliziert werden. Zur Bestimmung benutzt man für PAS 2 ml und für Isonicotinsäurehydrazid 4 ml Oxalatplasma.

E. MÜLLER (Würzburg)

Die papierchromatographische Trennung von Inositolphosphaten wurde von G. ANDERSON¹ unter Verwendung von nach dem Verfahren von S. POSTERNAK und T. POSTERNAK² hydrolysiertem Phytin durchgeführt: Die Lösung der Hydrolysenprodukte wird in Form eines schmalen Bandes auf einen Papierstreifen aufgetragen, der der Reihe nach mit verdünnter Salzsäure, Wasser, Ammoniumversenatlösung und Wasser gewaschen worden war. Die aufsteigende Entwicklung erfolgt bei etwa 23° C mit einem Gemisch von 70 Vol. Methanol und 30 Vol. 0,5 n Ammoniak. Nach dem Trocknen wird das Chromatogramm mit dem nach C. S. HANES und F. A. ISHERWOOD³ bereiteten Molybdat-Perchlorsäure-Reagens besprüht und zwischen Glasplatten 30 min bei 90° C getrocknet. Verf. stellte folgende R_F-Werte fest: Inosithexaphosphat: 0,06, 1. Hydrolysenprodukt (wahrscheinlich Tetraphosphat): 0,17, 2. Hydrolysenprodukt: 0,32, 3. Hydrolysenprodukt (Orthophosphat): 0,48. Verf. stellt die Veröffentlichung der ausführlichen Arbeitsmethodik für die qualitative und quantitative Ermittlung von Inositolphosphaten in Bodenproben in Aussicht.

K. SÖLLNER

Eine photometrische Mikromethode zur Bestimmung von Fettsäureestergruppen in Phospholipoiden beschreiben M. M. RAPPORT und N. ALONZO⁴. Bei dieser Methode werden die Carboxylestergruppen durch Hydrolyse mit Hydroxylamin abgespalten und die gebildete Hydroxamsäure nach Bildung der Eisen(III)-hydroxamsäurekomplexe ermittelt. Das Verfahren wurde mit Erfolg auf 12 natürliche und synthetische Phospholipide, darunter auf Lecithin, Phosphatidylcholin, Phosphatidylserin, Phosphatidyläthanolamin, Cardiolipin und Lysolecithin angewandt. Es eignet sich sehr gut zur Charakterisierung kleiner Mengen dieser Substanzen. — *Ausführung. Reagentien.* 3% ige Lösung von Hydroxylaminhydrochlorid in 95% igem Äthanol (täglich frisch bereiten, 1 g in 1,7 ml Wasser + 32,3 ml absolutem Äthanol), alkalische Hydroxylaminlösung (gleiche Teile der sauren Lösung und 3% iger äthanolischer NaOH-Lösung werden gemischt), Eisen(III)-perchlorat in Äthanol (man löst 0,5 g in einer Lösung von 487 ml 95% igem Äthanol und 13 ml 70% iger Perchlorsäure). — *Bestimmung.* Die Phospholipoidprobe, in Äthanol, Toluol oder Chloroform-Methanol gelöst, wird im Vakuum zur Trockne eingeengt. Zum Rückstand werden 3 ml Äther und nach dem Suspendieren 0,1 ml der alkalischen Hydroxylaminlösung zugesetzt. Unter Evakuieren erfolgt Verdampfen des

¹ Nature (London) **175**, 863—864 (1955). Macaulay Inst. f. Soil Res., Aberdeen.

² Helv. Chim. Acta **12**, 1165 (1929).

³ Nature **164**, 1107 (1949).

⁴ J. biol. Chemistry **217**, 193—198 (1955). State Dptm. Health und Cornell Univ. New York.

Lösungsmittels auf dem Wasserbad bei 62–68° C bei gleichzeitigem Schütteln (zuletzt bei 30 mm, um letzte Äthanolspuren zu entfernen) und schließlich die Zugabe von 6 ml Eisen(III)-perchlorsäurelösung. Die gefärbte Lösung kann sofort bis mehrere Stunden danach (gewöhnlich nach 30 min) bei 530 m μ gegen 95%iges Äthanol gemessen werden. Die molekularen Extinktionen sind für die Phospholipoiden, die 2 Mol Fettsäuren enthalten, etwa doppelt so hoch wie die von solchen Phospholipoiden, die nur 1 Mol Fettsäure im Molekül besitzen. Abweichungen vom theoretischen Wert sollen durch Verunreinigungen bedingt sein. H. KATHEN

Über die Biuretreaktion von Eiweißstoffen berichtet J. NYLÄST¹ in Zusammenhang mit der Untersuchung der Racemisierung der wechselnde Kupfermengen enthaltenden Gelatine-Biuretkomplexe. In früheren Arbeiten² beobachtete Verf., daß Metalle (Cu, Ni, Co), welche Proteine in Biuretkomplexen binden, die Racemisierung einiger Aminosäuren in alkal. Lösung verhindern. Bei Anwendung wechselnder Kupfermengen ergab sich, im Vergleich zu kupferfreien alkal. Lösungen, daß in der Racemisierung von Glutaminsäure, Asparaginsäure, Alanin, Valin, Leucin, Prolin, Phenylalanin und Methionin innerhalb der Versuchsfehler kein Unterschied ist. Dagegen wirken schon kleine Kupfermengen vermindern auf die Racemisierung von Hystidin, größere Kupfermengen auch auf Serin, Arginin, Lysin und Threonin; die basischen Aminosäuren und die Oxyaminosäuren der Gelatine weisen also die größte kupferbindende Eigenschaft auf. Damit ist eine Methode zur Bestimmung der Reihenfolge der Metallbindungsfähigkeit der Aminosäuren eines Eiweißstoffes gegeben und eine Möglichkeit aufgezeigt, um Schlüsse über Ort und Stärke der Metallbindungen zu ziehen. J. PLANCK

Über die Biuretreaktion von Polypeptiden mit unterbrochener Kette berichtet M. I. PLECHAN³. Zur Spektroskopie der Biuret-Komplexe werden 40 mg Hexamethylen-bis-carbamino-glycylglycin in 2 ml Wasser gelöst, 2 ml 2 n Natronlauge und 1 ml 0,25 m Kupfersulfatlösung werden zugegeben. Nach 10 min wird die Mischung filtriert und mit dem Beckman-Spektrophotometer photometriert. Analog wurden 0,2% ige Biuret-Komplexe von Hexamethylen-bis-carbamino-diglycylglycin und Hexamethylen-bis-ureido-acetyl-diglycylglycin untersucht. In Polypeptiden mit unterbrochener Kette bildet jeder Abschnitt (Segment) einen einzelnen Biuretkomplex. Zur Bestimmung von Kupfer im Biuret-Komplex wurden 40 mg Substanz in 2 ml 2 n Natronlauge und 6 ml Wasser gelöst, 2 ml 0,25 m Kupfersulfatlösung zugefügt und der Überschuß von Kupferhydroxyd nach 1 Std abfiltriert. Das Filtrat wird mit Essigsäure angesäuert und der Kupfergehalt jodometrisch bestimmt. MARTHA WILDAU

Aminosäuren. *Über eine schnelle und einfache flammenphotometrische Bestimmung des Aminostickstoffs in Aminosäuren und Eiweißhydrolysaten* berichten R. E. BEAUCHENE, A. D. BERNEKING, W. G. SCHRENK, H. L. MITCHELL und R. E. SILKER⁴. Grundlage der Methode ist die Bildung innerkomplexer Kupfersalze der Aminosäuren. Die Messungen werden mit dem Beckman DU-Spektralphotometer mit Flammenzusatz 9200 und Multiplier durchgeführt, und zwar bei maximaler elektrischer Empfindlichkeit und der Wellenlänge 324,8 m μ , Spaltbreite 0,04 mm,

¹ Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 296–300 (1954) [Ungarisch]. (M. dtsh. Zus.fass.). Univ. Budapest.

² Magyar Kémiai Folyóirat **59**, 33, 129, 300 (1953).

³ Ž. obšč. Chim. (J. angew. Chem.) **25**, 603–609 (1955). [Russisch]. I. Mediz. Inst., Moskau.

⁴ J. biol. Chemistry **214**, 731–739 (1955). Kansas Agric. Exper. Station, Manhattan, Kansas (USA).

Sauerstoffdruck $\sim 1,1$ atü, Acetylendruck $\sim 0,3$ atü und einem Durchsatz von 1,56 ml Probenlösung/min. — Zunächst wird eine Eichkurve, prozentuale Durchlässigkeit gegen Kupferkonzentration (0–50 ppm.), mit Kupfer-Standardlösungen aufgenommen. Untergrundkorrektur erfolgt mit dest. Wasser. Darauf stellt man eine Aminostickstoff-Eichkurve, prozentuale Durchlässigkeit gegen Milligramm α -Aminostickstoff/Liter (10–400 mg/l), aus Alanin-Standardlösungen auf. Dazu wird zu den Alaninlösungen je eine Suspension von Kupferphosphat in Natriumborat-Natriumchloridlösung zugefügt, das überschüssige Kupferphosphat abzentrifugiert und die überstehende tiefblaue Lösung des Kupfersalzes der Aminosäure analysiert. Zur Untergrundkorrektur wird eine Blindprobe (Wasser) den gleichen Operationen unterworfen. Mit Hilfe beider Eichkurven lassen sich aus den Durchlässigkeitswerten die Aminostickstoffmengen und die davon gebundenen Kupfermengen ermitteln. — Die Verf. analysierten ferner 16 α -Aminosäuren: Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glykokoll, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Tryptophan und Valin, sowie ein Gemisch aller mit gleichen α -Aminostickstoff-Anteilen. Bis auf Histidin (in Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Autoren) wurden in allen Fällen die vorgelegten Mengen mit guter Genauigkeit wiedergefunden. Phenylalanin, Methionin, Leucin und Tryptophan, die unlösliche Kupferkomplexe bilden, lassen sich im Gemisch mit Glykokoll analysieren. Verschiedene eiweißhaltige pflanzliche Materialien wurden enzymatisch (mit Pankreatin) hydrolysiert und analysiert. Die Ergebnisse stimmen mit denen anderer Methoden gut überein. Zum Vergleich wurden sämtliche Bestimmungen gleichzeitig mit der spektralphotometrischen Methode nach A. J. Worwod¹ überprüft. Die Übereinstimmung beider Methoden ist ausgezeichnet.

F. ROSENDAHL

Eine Methode zur Bestimmung von Aminoäuren in biologischem Material, die Dialyse und Austauscherausorption kombiniert, geben I. R. HUNTER, D. F. HOUSTON und E. B. KESTER² an. Die Untersuchungen sind an Reis, Mehl und Stärken durchgeführt. Dowex 50 (20 mesh) wird mit 5%iger NaOH-Lösung, die die Kapazität der benutzten Austauschermenge um das 10fache übersteigt, in die Na-Form verwandelt und mit Wasser durch Dekantieren vom NaOH-Überschuß und von feineren Partikeln befreit. In einer Säule wird dieses Material mit etwa 50 Milliäquiv. 5%iger Schwefelsäure/g Harz in die H⁺-Form verwandelt, gewaschen und für den Gebrauch lufttrocken gemacht. In einen 1 Liter-Glasstöpselzylinder gibt man 100 g von dem zu untersuchenden Material, z. B. von angekochtem, getrocknetem und auf 20 mesh zerkleinertem Reis. Ein Nojax-Cellophandialysierschlauch von 1,8 cm $\varnothing$ wird mit einer Aufschlammung von 40 g des obigen Austauschers beschickt und so mit Wasser gefüllt, daß noch eine kleine Luftblase bleibt, wenn er in einer Höhe abgebunden wird, die der inneren Zylinderhöhe entspricht. Nach Einbringen des Schlauches in den Zylinder füllt man mit Wasser auf, setzt 0,01% Natriumäthylquecksilber(II)-thiosalicylat als Konservierungsmittel zu und schüttelt 24 Std bei Raumtemperatur. Die Schüttelmaschine besteht aus einer vertikal rotierenden Holzscheibe, deren Durchmesser fast Zylinderhöhe erreicht. Auf der Scheibe lassen sich mit entsprechend angebrachten Stativklammern 3 Zylinder in liegender Lage (über Durchmesser und parallel dazu) anbringen. Die Umdrehungszahl beträgt 9/min. Man entnimmt die Cellophanschläuche, spült sie ab, entleert den Inhalt auf einen Büchner-Trichter und wäscht 4mal mit je 50 ml Wasser. Der Austauscher wird in einem 77 cm langen und 16 mm weiten Borsilicatglasrohr zur Säule aufgeschüttet. Elution erfolgt mit 250 ml 5 n NH₄OH in 5 ml/min. Die ersten

¹ Biochemic. J. 45, 412 (1949); vgl. diese Z. 135, 207 (1952).

² Analyt. Chemistry 27, 965–968 (1955). U. S. Dptm. of Agricult., Albany Calif.

100 ml werden verworfen, der Rest wird bei ~ 10 mm Hg und einer Badtemperatur von 30°C auf ~ 50 ml eingengt. Zur Entfernung letzter Spuren NH_3 kann sich eine 30 min lange Dampfdestillation anschließen. Vergleichsuntersuchungen unter den verschiedensten Bedingungen, deren Ergebnisse in Tabellen wiedergegeben sind, zeigen, daß die Aminosäuren zu beinahe 100% erfaßt werden.

Zur Mikrobestimmung von α -Aminosäuren und einfachen Peptiden auf Grund der Bildung der Kupfersalzkomplexe empfehlen P. BAUDET und E. CHERBULIEZ¹ an Stelle der üblichen Kupferphosphatsuspension einen mit Kupfer- und Phosphationen beladenen Ionenaustauscher zu verwenden. Das auf Zusatz von Jodid zum gelösten Kupferkomplex freierwerdende Jod wird als Jodamylesekomplex photometriert. Es lassen sich noch bei Aminosäuren $0,10\text{ }\mu\text{g/ml}$ α -Aminostickstoff und bei Oligopeptiden $0,20\text{ }\mu\text{g/ml}$ bestimmen. Die Werte streuen innerhalb sehr enger Grenzen. — *Bereitung des Austauschers.* ~ 10 g in üblicher Weise hergestellte Natriumform von feuchtem Dowex 50 (200—400 mesh) werden 3 Std mit einer $1,5\text{ n}$ Kupferchloridlösung geschüttelt und so lange mit Wasser durch Dekantieren gewaschen, bis 2 ml Waschwasser + $0,5\text{ ml}$ 20%ige Essigsäure + 4 ml der unten angegebenen Kaliumjodidlösung farblos bleiben. Der grünliche Austauscher wird 2 Std kräftig mit $0,033\text{ m}$ Phosphatpuffer $\text{pH } 7,8$ geschüttelt, wobei er deutlich grün wird und sich eine feine Suspension von Kupferphosphat bildet, die durch Dekantieren entfernt wird. Man wäscht weiter bis zum negativen Ausfall der Jodreaktion und bewahrt den Austauscher unter Wasser auf. 1 g feuchter Austauscher enthält dann $\sim 2,35$ Milliäquivalente Cu^{++} und $0,77\text{ PO}_4^{3-}$; das entspricht dem Schema $\text{R-SO}_3\text{-Cu-OPO}_3\text{-Cu}$. Nach Erschöpfen läßt sich der Austauscher regenerieren. An einer kleinen Probe bestimmt man einmal im Vakuum über KOH den Trockenrückstand. Für eine Bestimmung sind $\sim 10\text{ mg}$ Austauscher nötig. Vor jeder Bestimmungsserie wäscht man die benötigte Menge 3mal mit frisch ausgekochtem Wasser zur CO_2 -Beseitigung und stellt mit diesem Wasser durch Schütteln eine Suspension her, die im Milliliter $\sim 10\text{ mg}$ Austauscher enthält. — *Zur Bestimmung der Aminosäuren und Polypeptide* gibt man in ein $16 \times 160\text{ mm}$ -Pyrexglas 1 ml Untersuchungslösung, 1 ml Austauschersuspension und 2 ml $0,033\text{ m}$ Phosphatpuffer $\text{pH } 7,8$, verschließt mit Gummistopfen und schüttelt bei einer Lagerung der Gläser von $\sim 45^\circ$ zur Schüttelrichtung 45 min in horizontaler Richtung. Mit einer Spezialpipette, deren mit einem Glaswollepfropf armierte Spitze durch Schliff mit dem Schaft verbunden ist und die oberhalb des Schliffes zwischen 2 Eichstrichen 2 ml faßt, entnimmt man 2 ml , nimmt die Spitze ab und läßt 2 ml klare Flüssigkeit zur Bestimmung auslaufen. — *Kupferbestimmung. Reagentien.* Amyloselösung. In 80 ml kochendes Wasser gibt man in 3—4 Portionen 100 mg Amylose A_1 nach K. H. MEYER und P. RATHGEB², kocht nach dem letzten Zusatz noch 15 min , filtriert heiß, löst $1,1\text{ g}$ Cadmiumjodid im Filtrat und füllt nach Erkalten auf 100 ml auf. Die Lösung ist bei Zimmertemperatur mehrere Monate haltbar. — Kaliumjodidlösung. Frisch zu bereiten. 10 g Kaliumjodid werden in 84 ml Wasser gelöst und mit 15 ml Amyloselösung und einigen Tropfen $0,05\text{ n}$ Jodlösung versetzt bis leichte Rosafärbung bleibt. Beim Gebrauch setzt man 1 ml einer frisch bereiteten $0,1\%$ igen Pyrogallollösung zu. — *Ausführung.* Zu 2 ml Untersuchungslösung, die zwischen 1 und $15\text{ }\mu\text{g}$ Cu enthalten soll, gibt man $0,5\text{ ml}$ 20%ige Essigsäure und 4 ml Kaliumjodidlösung und bringt nach $\sim 2\text{ min}$ mit $0,2\text{ ml}$ 2 n NaOH-Lösung auf $\text{pH } 4,5$. Bei $570\text{ m}\mu$ (KLETT-SUMMERSON, Filter S 54) wird gemessen. Ein Blindwert mit Wasser statt Untersuchungsmaterial wird in Anrechnung gesetzt. Die Farbintensität bleibt 1 Std konstant. E. MÜLLER, Würzburg

¹ Helv. chim. Acta **38**, 841—847 (1955). Univ. Genf (Schweiz).

² Helv. chim. Acta **31**, 1533 (1948).